

**Beeinflussung der metabolischen Radikalbildung
von Halothan**

Christian Langner

*Diss. München
1904*



Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. A. Schmid

BEEINFLUSSUNG DER METABOLISCHEN RADIKALBILDUNG
VON HALOTHAN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Christian Langner
aus
Erlangen

München 1984

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München**

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. A. Schmid

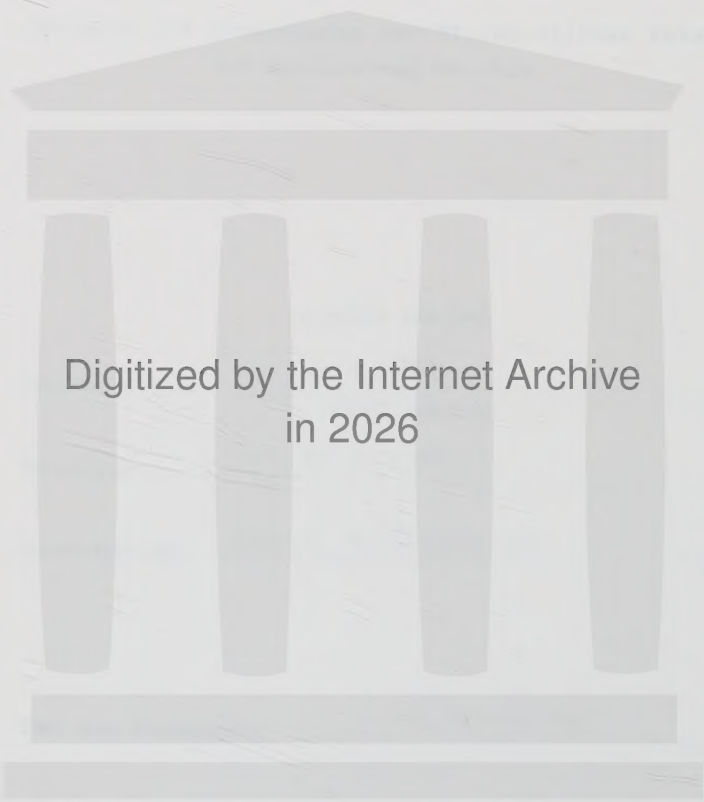
Korreferent: Prof. Dr. M. Merkenschlager

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

Meinen Eltern

und

meiner Frau



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0032

I	<u>EINLEITUNG</u>	4
II	<u>LITERATUR</u>	5
1	<u>Radikale und Radikalwirkungen in vivo</u>	5
1.1	<u>Definition und Eigenschaften von Radikalen</u>	5
1.2	<u>Nachweis von Radikalen</u>	6
1.2.1	Nachweise in vitro	7
1.2.2	Nachweise in vivo	8
1.3	<u>Metabolische Bildung von Radikalen und Radikalfolgeprodukten</u>	11
1.4	<u>Toxikologische Bedeutung von Radikalen und ihren Folgeprodukten</u>	14
1.4.1	Wirkung auf Lipide	14
1.4.1.1	Lipidperoxidation	14
1.4.1.2	Cytopathologische Bedeutung der Lipidperoxidation	15
1.4.2	Wirkung auf Proteine	16
1.4.2.1	Beeinflussung von Enzymaktivitäten	16
1.4.2.2	Immunitätsbeeinflussung	16
1.4.3	Wirkung auf Nucleinsäuren	17
1.4.3.1	Mutagene Wirkungen	17
1.4.3.2	Cancerogene Wirkungen	17
1.4.4	Sonstige Wirkungen	17
1.5	<u>Beeinflussung von Radikal- und Radikalfolgewirkungen</u>	18
1.5.1	Sauerstoffpartialdruck	18
1.5.2	Enzymhemmstoffe	18
1.5.3	Radikalfänger	19
1.5.4	Enzyme	21
1.5.4.1	Catalase	21
1.5.4.2	Peroxidasen	21
1.5.4.3	Superoxiddismutasen	22

	Seite
2 <u>Halothan</u>	23
2.1 <u>Allgemeines</u>	23
2.2 <u>Physikalische und chemische Eigenschaften</u>	23
2.3 <u>Metabolisierung</u>	24
2.3.1 <u>Oxidative Metabolisierungsreaktionen</u>	24
2.3.2 <u>Reduktive Metabolisierungsreaktionen</u>	25
2.4 <u>Nebenwirkungen</u>	27
2.4.1 <u>Klinische Nebenwirkungen</u>	27
2.4.2 <u>Morphologische Nebenwirkungen</u>	28
2.4.3 <u>Biochemische Nebenwirkungen</u>	28
III <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	29
1 <u>Problemstellung</u>	29
2 <u>Versuchsplan</u>	29
3 <u>Untersuchungsmethodik</u>	31
3.1 <u>Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung</u>	31
3.2 <u>Gewinnung der Expirationsluft</u>	33
3.3 <u>Chemikalien und Referenzgase</u>	33
3.4 <u>Versuchsdurchführung</u>	34
3.5 <u>Malondialdehydbestimmung</u>	35
3.6 <u>Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas</u>	36
3.7 <u>Beeinflußung der metabolisierenden Enzyme</u>	36
3.8 <u>Beeinflußung des Sauerstoffpartialdruckes</u>	36
3.9 <u>Verabreichung von Cyanidanol</u>	36
4 <u>Versuchsauswertung</u>	37
4.1 <u>Kohlenwasserstoffbestimmung</u>	37
4.1.1 <u>Qualitative Auswertung</u>	37
4.1.2 <u>Quantitative Auswertung</u>	37
4.2 <u>Malondialdehydberechnung</u>	40
4.3 <u>Flächenberechnung der Dosis-Wirkungskurven</u>	43

4.4	<u>Statistische Beurteilung</u>	Seite 45
5	<u>Ergebnisse</u>	46
5.1	<u>Blindwerte und Blindversuche</u>	46
5.1.1	Blindwerte	46
5.1.2	Blindwerte mit Halothan	47
5.1.3	Vergleichswerte mit Referenzgasen	48
5.1.4	Blindversuche mit unbehandelten Versuchstieren	49
5.2	<u>Chromatogramm der Expirationsluft von Versuchstieren nach Halothanbelastung</u>	50
5.3	<u>Testversuche</u>	51
5.3.1	Vergleich der Ethan- und Malondialdehydbildung männlicher Mäuse nach Halothanapplikation mit den Werten weiblicher Versuchstiere	51
5.3.1.1	Ethanexpiration	51
5.3.1.2	Malondialdehydbildung in der Leber	54
5.3.2	Halothanbehandlung weiblicher Mäuse bei verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken	58
5.3.2.1	Ethanexpiration	58
5.3.2.2	Malondialdehydbildung in der Leber	61
5.3.3	Einfluß des Enzymhemmstoffes Metyrapon auf die halothanbedingte Lipiperoxidation	64
5.3.3.1	Ethanexpiration	64
5.3.3.2	Malondialdehydbildung in der Leber	67
5.3.4	Einfluß des Radikalfängers (+)-Cynidanol-3 auf die halothanbedingte Lipidperoxidation	70
5.3.4.1	Ethanexpiration	70
5.3.4.2	Malondialdehydbildung in der Leber	73
5.4	<u>Zusammenfassung der Ergebnisse</u>	76
5.4.1	Ethanexpiration	76
5.4.2	Malondialdehydbildung in der Leber	79
IV	<u>DISKUSSION</u>	82
V	<u>ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY</u>	88
VI	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	90

I

EINLEITUNG

Halothan ist ein fluor-, chlor- und bromhaltiges Inhalationsanästhetikum ($\text{CF}_3\text{-CHClBr}$), das im Laufe der vergangenen 30 Jahre weltweite Verbreitung in der Tier- und Humanmedizin gefunden hat (Büch und Büch 1980).

Als bedeutendste Nebenwirkung hat sich dabei gezeigt, daß Halothan bei kurz aufeinanderfolgender wiederholter Anwendung und/oder Hypoxie (Reynolds und Moslen 1980) eine schwere, zu etwa 50% tödlich verlaufende "Hepatitis" verursachen kann (Marshall und Wollmann 1980).

Derartige Leberschädigungen sind von vielen halogenierten Kohlenwasserstoffen bekannt. Als Ursache wurde ihre Bio-transformation zu freien Radikalen nachgewiesen (Recknagel et al. 1977; Sagai und Tappel 1979; Schmid und Jungbauer 1980). Die entstehenden freien Radikale sind sehr reaktionsfähige Intermediate, die oxidationsempfindliche Strukturen des Organismus wie zelluläre und subzelluläre Membranen, Enzymproteine, Nukleinsäuren usw. schädigen (Demopoulos 1973b). Die Metabolisierung dieser Substanzen führt also zu einer "Giftung".

Da auch Halothan ein halogenerter Kohlenwasserstoff ist, wurde eine Radikalbildung als Ursache der Halothan-Hepatitis angenommen und bewiesen (Beuter und Schmid 1983; Gienger 1982; Hempel und Köster 1980; Reynolds und Moslen 1977).

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung war es, diese Kenntnisse zu vertiefen im Hinblick auf:

- a. Geschlechtsunterschiede bei der Metabolisierung von Halothan zu freien Radikalen,
- b. den Einfluß der Sauerstoffkonzentration in der Atemluft auf die Radikalbildung,
- c. eine Hemmung der halothan-metabolisierenden Enzyme und
- d. die Beeinflussbarkeit der Radikalwirkungen durch Radikalfänger.

II LITERATUR

Der gegenwärtige, in der Literatur dokumentierte Stand des Wissens über die vorstehende Problemstellung ist im folgenden unter zwei Aspekten abgehandelt:

- a. Radikalbildung in vivo und ihre toxikologische Bedeutung;
- b. Metabolische Radikalbildung aus Halothan einschließlich ihrer medikamentösen Beeinflußbarkeit.

1 Radikale und Radikalwirkungen in vivo

1.1 Definition und Eigenschaften von Radikalen

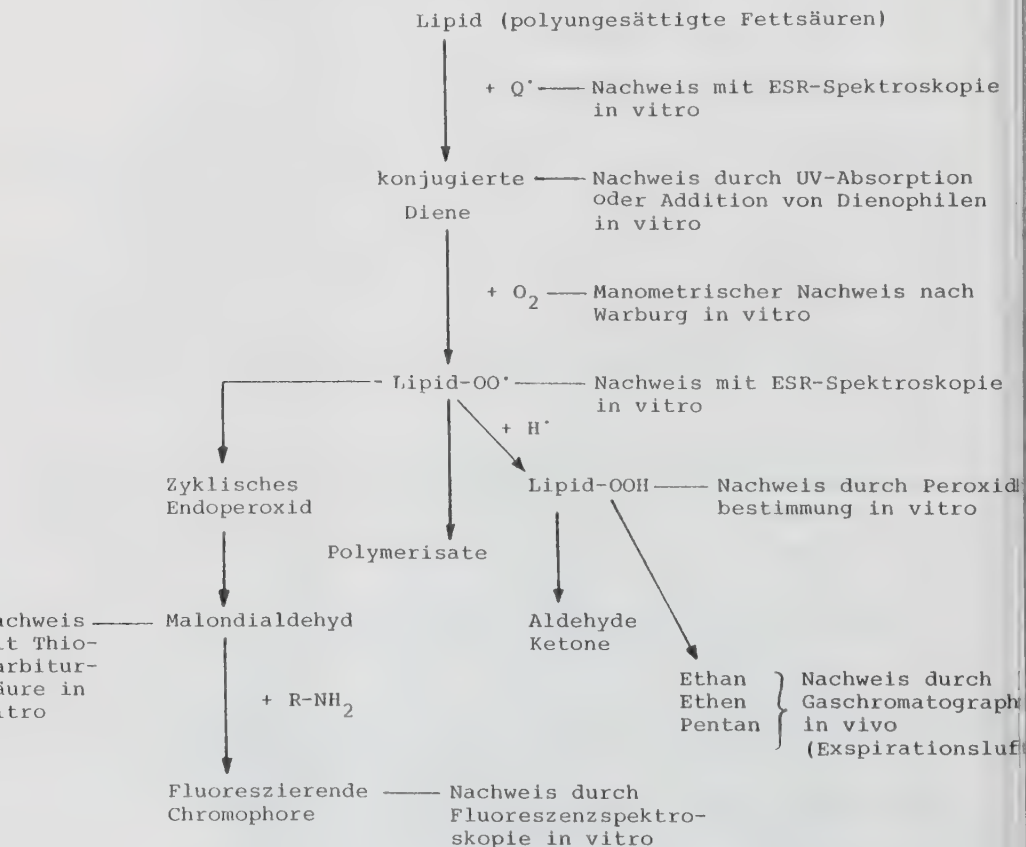
Ein Radikal ist ein Atom oder Molekül, das auf einem äußeren Orbital ein einzelnes, ungepaartes Elektron besitzt (Demopoulos 1973b). Radikale können positiv geladen ($Q^{\cdot+}$), negativ geladen ($Q^{\cdot-}$) oder elektrisch neutral ($Q^{\cdot}$) sein (Demopoulos 1973a). Die Reaktivität von Radikalen ist groß und ihre Lebensdauer daher kurz (wenige msec), es sei denn, daß eine mesomere Stabilisierung (z.B. im Nitroxidradikal) oder tiefe Temperaturen die Stabilität erhöhen (Pryor 1976).

Das Elektronendefizit ihrer Hülle trachten die Radikale durch Aufnahme eines Elektrons von oxidationsempfindlichen Substraten (z.B. ungesättigten Fettsäuren in Membranlipiden), durch Anlagerung an elektronenreiche Strukturen (Additionsreaktionen) oder durch Kombination mit einem zweiten Radikal auszugleichen (Pryor 1976).

Radikalische Reaktionen laufen gewöhnlich als Kettenreaktionen ab, da ein zunächst gebildetes Radikal (Initiationsreaktion) weitere Radikale induziert (Propagationsreaktion). Dieser Prozeß setzt sich solange fort, bis zwei Radikale aufeinander treffen oder eine Additionsreaktion eintritt (Terminationsreaktion) (Pryor 1976).

1.2. Nachweis von Radikalen

Neben dem direkten Nachweis von Radikalen (ESR-Technik s.u.) stehen vor allem indirekte Nachweismethoden zur Verfügung, die sich das Vorhandensein typischer Radikalfolgeprodukte und -reaktionen (konjugierte Diene, Peroxide, fluoreszierende Addukte, Spaltprodukte ungesättigter Fettsäuren wie Ethan, Ethen, Pentan und Malondialdehyd, erhöhter Sauerstoffverbrauch) zunutze machen. Dies ist im nachstehenden Schema veranschaulicht (wo $Q^{\cdot}$ ein Radikal, z.B. ein Halothanradikal, symbolisiert).



Die vorstehende Übersicht zeigt, daß im tierischen Organismus entstehende Radikale sowohl am lebenden Tier (in vivo) als auch in tierischen Untersuchungsproben (in vitro) nachgewiesen werden können. Einzelheiten dazu werden im folgenden erläutert.

1.2.1 Radikalnachweise in vitro

ESR-Spektroskopie. Eine Möglichkeit zur direkten Erfassung von Radikalen in vitro ist die Elektronen-Spin-Resonanz-Spektroskopie. Dabei wird das in einem konstanten äußeren Magnetfeld orientierte paramagnetische Moment der ungepaarten Elektronen von Radikalen durch ein zweites äußeres magnetisches Wechselfeld geeigneter Frequenz zur Oszillation zwischen verschiedenen Orientierungen (Energiezuständen) gebracht und die dabei absorbierte Energie des Wechselfeldes gemessen (Borg 1972). Auf diese Weise lassen sich auch kurzlebige Radikale erfassen, wenn sie mit Radikal-stabilisierenden Verbindungen (Nitron- oder Nitrosoverbindungen) umgesetzt werden (spin trapping) (McCay et al. 1980; Saprin und Plette 1977; Sykes 1982).

Bestimmung der Dienkonjugation. Eine andere Möglichkeit zum indirekten Nachweis von Radikalen in vitro ist die Bestimmung der konjugierten Diene ($-CH=CH-CH=CH-$) in tierischen Lipiden. Sie entstehen bei der radikalbedingten Oxidation von ungesättigten Fettsäuren und lassen sich nachweisen

- a. anhand der UV-Absorptionszunahme von Lipidextrakten bei einer Wellenlänge von 233 m (Recknagel et al. 1982) bzw.
- b. durch Bestimmung der Addition von ^{14}C -Tetracyanethylen (oder anderen Dienophilen) an extrahierte Lipide (Waller und Recknagel 1977).

Bestimmung des Sauerstoffverbrauches. Gleichfalls eine indirekte Methode zum Radikalnachweis in vitro ist die manometrische Bestimmung der Sauerstoffabsorption von Gewebeproben etc. nach Warburg bei der Peroxidation von Lipid-

radikalen (Dillard und Tappel 1973).

Peroxid-Bestimmung. Darüber hinaus können auch die so entstandenen Lipidperoxide

- a. jodometrisch titriert (Bunyan et al. 1967) oder
- b. anhand ihrer mit Pigmentbildung einhergehenden Oxidationswirkung auf N,N'-Diphenyl-p-phenyldiamin (DPPD) photometrisch (Absorptionszunahme bei 560 nm) erfaßt werden (Dugan 1960).

Malondialdehyd-Bestimmung. Eine weitere Möglichkeit zum indirekten Nachweis von Radikalen in Gewebeproben etc. besteht in der photometrischen Bestimmung der Pigmentbildung (Absorptionszunahme bei 535 nm) von Malondialdehyd ($\text{OHC}-\text{CH}_2-\text{CHO}$) mit Thiobarbitursäure (Bernheim et al. 1948; Dahle et al. 1962; Recknagel et al. 1982; Terao und Matsushita 1981), da Malondialdehyd als Zerfallsprodukt radikalinduzierter Lipidperoxide - genau: cyclischer Endperoxide von ungesättigten Fettsäuren (Dahle et al. 1962) - anfällt.

Die "Thiobarbiturat-Methode" hat große praktische Bedeutung zum indirekten Nachweis von Radikalen erlangt (Recknagel et al. 1982); soweit die Radikalbildung jedoch in vivo erfolgt, hat die Methode den Nachteil einer beschränkten Empfindlichkeit, da Malondialdehyd im tierischen Organismus schnell metabolisiert wird (Placer et al. 1965).

Bestimmung fluoreszierender Pigmente. Eine ziemlich empfindliche Methode zum indirekten Nachweis von Radikalen ist dagegen die Bestimmung fluoreszierender Chromophore mit Emissionsmaxima zwischen 420 und 470 nm (Recknagel et al. 1982). Es handelt sich dabei um komplexe Vernetzungsprodukte von carbonylhaltigen Resten ($-\text{CO}-$) peroxidierten Fettsäuren mit primären Aminogruppen ($-\text{NH}_2$), die die Grundstruktur konjugierter Schiff'scher Basen ($-\text{N}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$) aufweisen (Purdy und Tappel 1979; Recknagel et al. 1982).

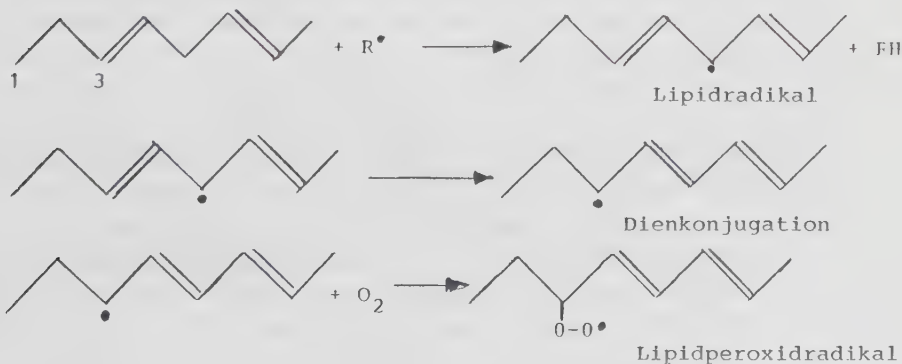
1.2.2 Radikalnachweis in vivo

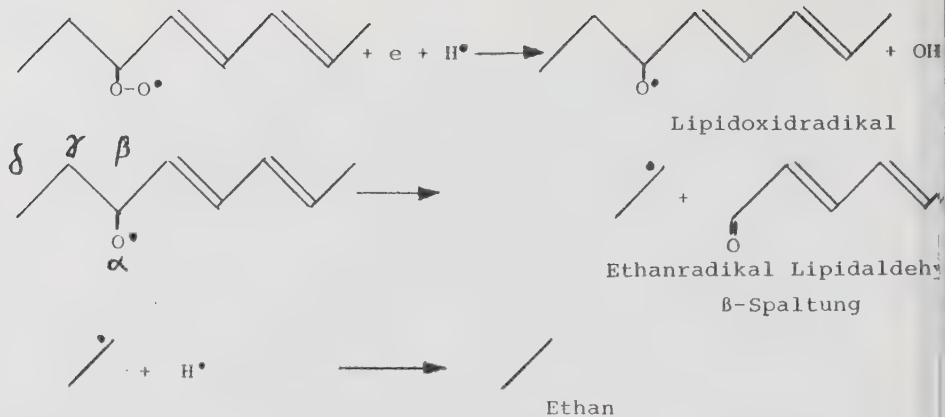
Am lebenden Tier ist der Nachweis freier Radikale bislang nur indirekt durch gaschromatographische Bestimmung flüchtiger kurzkettiger Kohlenwasserstoffe in der Expirations-

luft möglich, welche als Zerfallsprodukte von radikalgeschädigten polyungesättigten Fettsäuren im Organismus entstehen. Auf diese Weise läßt sich eine Radikalbildung in vivo sowohl qualitativ als auch quantitativ nachweisen.

Der erste Radikalnachweis dieser Art ist von Riely et al. (1974) durch gaschromatographische Ethanbestimmung in der Expirationsluft von Ratten geführt worden, die vorher mit Tetrachlorkohlenstoff belastet worden waren. Inzwischen sind E t h a n (Dillard et al. 1977; Gee und Tappel 1981; Hafeman und Hoekstra 1977; Koester et al. 1977; Recknagel et al. 1982; Schmid 1979; Schmid und Christoph 1980), E t h e n (Frank et al. 1978; Gee und Tappel 1981; Hintze und Remmer 1979; Schmid und Jungbauer 1980; Schmid und Beuter 1982) sowie P e n t a n (Dillard et al. 1977; Dillard und Tappel 1979; Recknagel et al. 1982; Tappel 1980; Tappel und Dillard 1981) von vielen Autoren in der Expirationsluft von Versuchstieren nach einer Verabreichung von radikalbildenden Fremdstoffen nachgewiesen worden.

Diese kurzkettigen Kohlenwasserstoffe können u.a. durch β -Spaltung von intermediär gebildeten Lipidperoxidradikalen entstehen, wobei Ethan bei einer Spaltung von ω 3-ungesättigten Fettsäuren (Beispiel: Linolensäure) gebildet wird:





und Pentan bei der Spaltung von ω_6 -ungesättigten Fettsäuren (Beispiele: Arachidon- und Linolsäure) (nach Frank et al. 1978).

Unklarheit besteht dagegen über die Bildung von Ethen. Diskutiert wird seine Entstehung durch Disproportionierung von zwei Ethyl-Radikalen (Dumelin und Tappel 1977; Gee und Tappel 1981) und durch radikalische Zersetzung von Methionin bzw. Methional (Beauchamp und Fridovich 1970; Lieberman und Kunishi 1965).

Neben Ethan und Ethen können bei der radikalischen Schädigung von Lipiden noch weitere gasförmige Kohlenwasserstoffe wie Methan, Propan und Butan auftreten (Recknagel et al. 1982).

Ein gewisses Problem bei der Gewinnung der Expirationsluft stellt die erforderliche, stundenlange Akkumulationsdauer dar, während welcher sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen expirierten und reinhaliierten (umverteilten und metabolisierten) Kohlenwasserstoffen einstellt, das die meßbare Ausbeute der Kohlenwasserstoffe wesentlich herabsetzen kann (Frank et al. 1980).

1.3 Metabolische Bildung von Radikalen und Radikalfolgeprodukten

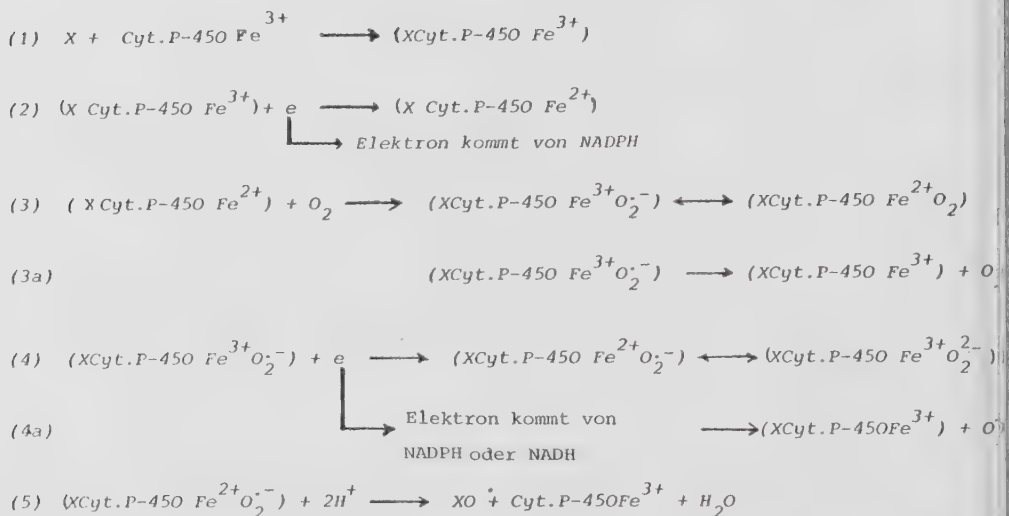
Die metabolische Radikalbildung aus körperfremden Stoffen (Xenobiotica) erfolgt hauptsächlich in der Leber durch die sogenannten mischfunktionellen Monooxygenasen (MFO). Diese sind mikrosomale Enzymsysteme, die Xenobiotica gewöhnlich oxidieren, aber auch reduzieren können (Schenkman und Gibson 1981). Besonders hohe Konzentrationen von MFO wurden in der relativ sauerstoffarmen zentrilobulären Zone der Leberläppchen gefunden (Sweeney 1981).

Die Funktion des mischfunktionellen Monooxygenasensystems besteht darin, Elektronen (e) von NADPH bzw. NADH auf das terminale Enzym Cytochrom P-450 zu übertragen (Schenkman und Gibson 1981):



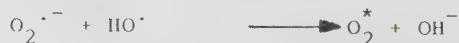
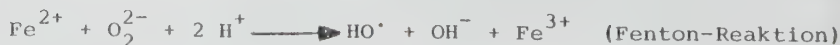
Die Cytochrome P-450 stellen eine Gruppe von Isoenzymen mit überlappender Substratspezifität und Induzierbarkeit dar, wobei drei Typen der Enzyminduktion unterschieden werden: Der Phenobarbitaltyp, der 3-Methylcholanthrentyp und der Pregnenolon-17 α -Carbonitriltyp (Sweeney 1981). Ebenso sind eine Reihe von Enzymhemmstoffen bekannt, z.B. Proadifen, Metyrapon und Piperonylbutoxid (Pfeifer und Borchert 1980; Yamamoto 1973).

Körperfremde Stoffe (X) werden von Cytochrom P-450 in folgender Weise oxidiert:



(Schmid 1982b)

Das Reaktionsschema zeigt, daß die mischfunktionellen Monoxygenasen Superoxidradikale (Gleichung 3a) und Peroxide (Gleichung 4a) produzieren können, deren Bildung durch Elektronenüberschuß begünstigt wird. Diese mögen eine Mitursache der "physiologischen" Lipidperoxidation im Organismus sein (Schmid 1982), da Superoxidradikale und Peroxide möglicherweise zu sehr reaktionsfähigen Hydroxylradikalen ($\text{HO}^{\cdot}$) bzw. zu hochangeregtem Singletsauerstoff (O_2^*) weiterreagieren können (Hill 1979; Willson 1979):

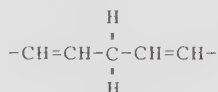


1.4 Toxikologische Bedeutung von Radikalen und ihren Folgeprodukten

Radikale können mit vielen biologisch wichtigen Verbindungen wie Lipiden, Proteinen, Nukleinsäuren und Polysacchariden reagieren (Demopoulos 1973b; Zimmermann 1982). Mögliche Folgen sind die Veränderung von Struktur und/oder Funktion des angegriffenen Zellbestandteils.

1.4.1 Wirkung auf Lipide

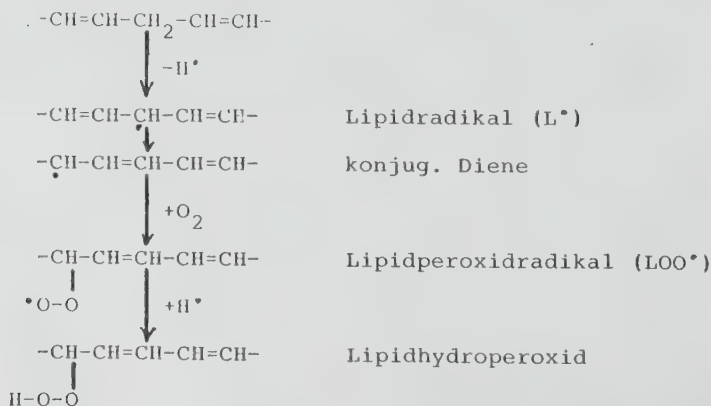
Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren der Membranlipide sind für den Angriff von Radikalen besonders zugänglich, da ihre divinylmethanartige Teilstruktur



ein aus Mesomeriegründen (Sykes 1982) labilisiertes Wasserstoffatom (α -Methylen-Wasserstoff) enthält, das von einem Radikal leicht abgespalten werden kann (Demopoulos 1973b). Dabei entsteht ein Lipidradikal, das in Gegenwart von Sauerstoff zum Lipidperoxid oxidiert wird (Lipidperoxidation).

1.4.1.1 Lipidperoxidation

Im folgenden ist die Peroxidation eines Lipides ausschnittsweise dargestellt (Lindquist 1968):



Die Lipidperoxide (LOOH) sind metastabile Verbindungen, die weiter zerfallen. Dabei kommt den Schwermetallen Eisen und Kupfer eine katalytische Wirkung zu, besonders, wenn sie in Häm-Komplexen vorliegen (Demopoulos 1973b; Tappel 1973; Vladimirov et al. 1980).

Insgesamt können bei der Lipidperoxidation folgende Zerfalls- und Folgeprodukte entstehen: Lipid- ($L^{\cdot}$) und Lipidperoxid-Radikale ($LOO^{\cdot}$), Superoxidradikale ($O_2^{\cdot-}$), Hydroperoxid-Radikale ($HOO^{\cdot}$), Singletsauerstoff (O_2^*) und Lipidvernetzungsprodukte (LL, LOL, LOOL) (Barber und Bernheim 1967; Tappel 1973). Außerdem werden Aldehyde, Ketone, Alkohole, Epoxide und verzweigtkettige Derivate gebildet (Keeney 1962).

1.4.1.2 Cytopathologische Bedeutung der Lipidperoxidation

Es gibt Hinweise, daß unter physiologischen Bedingungen ständig ein gewisses Maß an Lipidperoxidation stattfindet, die der Organismus durch Schutzstoffe und -mechanismen (s.u.) "neutralisieren" muß (Högberg 1977; DeMatteis 1978). Wenn diese Schutzmechanismen überfordert werden, stellen sich pathologische Konsequenzen ein (Recknagel et al. 1977). Diese manifestieren sich in erster Linie als Veränderung bzw. Zerstörung von Membranen. Je nach Art der Membran finden sich also Hämolyse (Hochstein und Jain 1981), Leberzellnekrose (Recknagel und Glende 1973), Schwellung und Lysis von Mitochondrien (Hunter et al. 1964; Vladimirov et al. 1980), Labilisierung der Lysosomenmembran mit Austritt von lysosomalen Enzymen und Autodigestion der Zelle (Fong et al. 1973; Tappel 1973), Schwellung und Disaggregation der Polyribosomen mit Hemmung der Proteinsynthese (Robinson 1965; Dianzani 1978) usw..

Weiter ist eine Fülle von Enzymen membrangebunden und kann nur in gebundener Form ihre Funktion erfüllen. Dazu gehören u.a. die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Wills 1971; Recknagel et al. 1977).

Zu den cytopathologischen Folgen der Lipidperoxidation können außerdem toxische Lipidzerfallsprodukte wie Malondialdehyd beitragen, und die von Willis (1980) erwähnten Prostacycline, Thromboxane, Prostaglandine und Lysophosphatide.

Abgesehen davon, ist von Epstein und Gershon (1972) sowie Dinzani und Ugazio (1978) darauf hingewiesen worden, daß das Alterspigment Lipofuscin ein Kondensationsprodukt aus Malondialdehyd und Aminosäuren darstellt. Dies legt eine Beteiligung von Lipidzerfallsprodukten am Alterungsprozeß nahe.

1.4.2 Wirkung auf Proteine

Neben der erwähnten Schädigung von Enzymen als Folge einer Peroxidation benachbarter Lipide, werden Proteine auch selbst durch Radikale angegriffen.

1.4.2.1 Beeinflussung von Enzymaktivitäten

Bei einer radikalischen Proteinalteration treten Polymerisationen, Bruch der Polypeptidkette und Veränderungen an einzelnen Aminosäuren auf (Tappel 1973). Unter ihnen kommt den Polymerisationsreaktionen die größte Bedeutung zu. Die Aminosäuren Methionin, Histidin, Cystein und Lysin sowie generell Sulfhydryl-Gruppen sind am stärksten betroffen (Tappel 1973). Die angegebenen Reaktionen können zu einem Verlust der Struktur und/oder der Funktion von Enzymen führen.

1.4.2.2 Immunitätsbeeinflussung

Eine weitere mögliche Folge der Schädigung von Proteinen durch Radikale ist eine Immunsuppression (Baur 1979). Darüber hinaus kann die Bindung von reaktiven Metaboliten an Makromoleküle Allergene hervorbringen (Neuberger und Davis 1983), die eine Zerstörung der Zelle durch Immunreaktionen einleiten (Neuberger und Davis 1983).

1.4.3 Wirkung auf Nukleinsäuren

Wenn Radikale mit Nukleinsäuren reagieren kommt es in erster Linie zur Abstraktion von Wasserstoffatomen (Myers 1973). Daneben wurden in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit Basen- und Seitenkettenveränderungen, Einzelstrangbrüche, Basen- und Seitenkettenabspaltung, Doppelstrangbrüche und vereinzelt kovalente Bindungen (cross-linkage) (Myers 1973) beobachtet.

1.4.3.1 Mutagene Wirkungen

Außer diesen potentiell mutagenen Reaktionen sei noch hingewiesen auf die Neigung von Radikalen, mit nukleophilen Reaktionspartnern kovalente Bindung einzugehen und auf die Fähigkeit des Malondialdehyd, Vernetzungen zwischen DNA- und RNA-Molekülen auszubilden (Tappel 1973). Alle diese Reaktionen können Mutationen auslösen, wenn die Reparaturmechanismen überfordert bzw. Repairenzyme geschädigt werden, so daß Veränderungen der DNA bestehen bleiben.

1.4.3.2 Cancerogene Wirkungen

Jeder Fremdstoff, der zu Radikalen biotransformiert wird, muß als potentiell cancerogen angesehen werden, da die metabolische Umwandlung in elektrophile Moleküle der gemeinsame cancerogene Mechanismus einer Vielzahl von krebserregenden Substanzen ist (Guenthner und Oesch 1981). Dazu kommt, daß die erwähnten mutagenen Wirkungen von Radikalen eine Cancerogenese nach sich ziehen können (Guenthner und Oesch 1981) und daß die potentiell immunsuppressive Wirkung der Radikale cocancerogen wirken kann.

1.4.4 Sonstige Wirkungen

Abgesehen von ihrer schädigenden Wirkung auf spezifische Gewebebausteine ist bekannt, daß Radikale auch Biopolymere wie Kollagen, Hyaluronsäure usw. angreifen (Zimmermann 1982).

So können z.B. die Viskosität der Synovialflüssigkeit erniedrigt und Leukozyten chemotaktisch durch Radikalfolgeprodukte angelockt werden (Zimmermann 1982). Diese Möglichkeit läßt an eine Beteiligung von Radikalen an chronischen Entzündungsprozessen denken.

1.5 Beeinflussung von Radikal- und Radikalfolgewirkungen

1.5.1 Sauerstoffpartialdruck

Obwohl für aerobe Organismen die Aufnahme von Sauerstoff lebensnotwendig ist, stellen sich bei Erhöhung der natürlichen Sauerstoffspannung toxische Sauerstoffwirkungen ein. Sie beruhen darauf, daß die Reduktion des Sauerstoffs bei der Wasserbildung über eine Reihe von Ein-Elektronen-Schritten verläuft, wobei toxische Radikale entstehen (Fridovich 1976; Haugaard 1968). Aus diesem Grund stellt der unter physiologischen Bedingungen niedrige intrazelluläre Sauerstoffpartialdruck ($pO_2 = 666-2666 \text{ Pa}$ im Herz- und Skelettmuskel) einen wichtigen Schutz gegen die Lipidperoxidation dar (Recknagel et al. 1977).

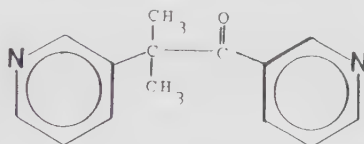
Andererseits wird die metabolische Radikalbildung durch Reduktion von Fremdstoffen von einem niedrigen Sauerstoffpartialdruck begünstigt, da der Sauerstoff mit dem Substrat um das reduzierende Elektron konkurriert (Kieczka et al. 1979; MacDonald 1983; Reynolds und Moslen 1980). So konnten Kieczka et al. (1979) in vitro durch Senkung der Sauerstoffkonzentration auf 15, 10 und 5% eine erhebliche Steigerung der irreversiblen Bindung reaktiver CCl_4 Metaboliten an Lipide und Proteine als Ausdruck der Radikalbildung erreichen (Kieczka et al. 1981).

1.5.2 Enzymhemmstoffe

Die metabolische Bildung von Fremdstoffradikalen kann durch eine Reihe von Hemmstoffen der mischfunktionellen Monooxygenasen vermindert werden, da diese vor allem an der Fremdstoffmetabolisierung beteiligt sind. Über die einer solchen

Enzymhemmung zugrunde liegenden Mechanismen bestehen folgende Vorstellungen (Netter 1980): Hemmstoffbindung an das Cytochrom-Eisen oder seine Nachbarschaft; Blockierung der Substratbindungsstelle; Inaktivierung des Cytochrom P-450 durch Umwandlung in Cytochrom P-420; Hemmung der Reduktion des Cytochrom P-450, z.B. durch Antikörperbildung gegen die Cytochrom-Reductase und Entzug von Elektronen, z.B. durch Umleitung auf Cytochrom c.

Das in den vorliegenden Untersuchungen verwendete Metyrapon (Metopiron^R) ist ein Pyridinderivat (2-Methyl-1,2-bis-(3-pyridyl)-1-propanon) mit folgender Strukturformel:



Metyrapon hemmt die Funktion des Cytochrom'P-450, indem es an das Häm-Eisen bzw. in seiner unmittelbaren Nachbarschaft gebunden wird (Netter 1980).

Auch einige andere enzymatische Oxidationen werden durch Metyrapon gehemmt, z.B. die Steroid-17 β -Hydroxylation. Dies hat zu seinem Einsatz in der Diagnostik (Metopirontest) geführt.

Eine Hemmung halothaninduzierter Leberzellnekrosen durch Metyrapon bei enzymstimulierten Versuchstieren wird von Nastainczyk et al. (1982) beschrieben.

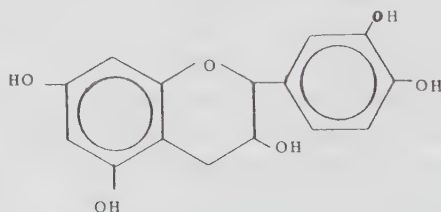
1.5.3 Radikalfänger

Zur Kontrolle der potentiellen Gefahren, die von der Oxidationswirkung des Sauerstoffs sowie metabolisierter Radikale ausgehen, verfügt der Organismus über diverse Schutzstoffe bzw. Schutzmechanismen. Eine besondere Rolle spielt dabei das Vitamin E (α -Tocopherol), das wegen seiner Lipid-

löslichkeit in den zellulären und subzellulären Membranlipiden konzentriert ist, eine hydrochinonartige Struktur besitzt und seit langem als Radikalkettenterminator bekannt ist (Cohen 1979; McCay et al. 1980; Tappel 1972). Es stellt "die erste Verteidigungslinie des Organismus" gegen die Peroxidation seiner Phospholipide dar (Scott 1980).

Als weitere wichtige Radikalfänger sind zu erwähnen: Vitamin (Ascorbinsäure) (Demopoulos 1973b), β -Carotin (Fridovich 1979), Histidin (Fridovich 1979), Thiole wie Cystein, Cysteamin, Glutathion (Demopoulos 1973b), Antioxidantien wie Phenole, DPPD (N,N'-Diphenyl-p-phenylendiamin), Ethoxyquin (Demopoulos 1973b) sowie generell alle Verbindungen, die ein freies Elektronenpaar (von N-, S-, oder O-Atomen) zur Bindung von Radikalen oder ihren Folgeprodukten zur Verfügung stellen können (Remmer 1982).

Das in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzte (+)-Cyanidanol-3 ist eine heterozyklische Verbindung aus der Gruppe der Flavane mit folgender Strukturformel:



(+)-Cyanidanol-3 ist ein gut verträglicher Radikalfänger (Anonym 1979; Bertelli 1975), der als Lebertherapeutikum (Catergen^R) mit folgenden Indikationen im Handel ist: Akute Virushepatitis, chronische Hepatitis, toxische Leberschäden (Tetrachlorkohlenstoff etc.) und Behandlung der alkoholischen Hepatitis (Anonym 1979).

Über die Radikalfänger-Eigenschaften des (+)-Cyanidanol-3 in vitro berichteten Slater und Eakins (1975). Diese Ergebnisse konnten insofern bestätigt werden als (+)-Cyanidanol-3 auch in isolierten Hepatozyten (Kappus et al. 1979)

und in vivo (Köster-Albrecht et al. 1979) die durch CCl_4 , CBrCl_3 und Fe^{2+} -Ionen ausgelöste Lipidperoxidation wesentlich hemmen konnte.

1.5.4 Enzyme

1.5.4.1 Catalase

Die Catalase ist ein in fast allen Zellen vorkommendes Hämoprotein, das spezifisch Wasserstoffperoxid umsetzt (Fridovich 1976):



Diese Reaktion stellt einen wichtigen Schutzmechanismus gegen die oxidierende Wirkung des als Radikalfolgeprodukt anfallenden Wasserstoffperoxids dar. Unter ungewöhnlichen Umständen, d.h. bei geringer Wasserstoffperoxid-Konzentration und in Gegenwart von elektronenliefernden Cosubstraten wie Alkoholen oder Formiat, kann die Catalase auch als Peroxidase (s.u.) fungieren (Fridovich 1976).

1.5.4.2 Peroxidasen

Die Peroxidasen sind Enzyme, die eine Vielzahl von Peroxiden inaktivieren und den Organismus vor den Schädwirkungen der Lipidperoxide bzw. ihrer Zerfallsprodukte schützen (Fridovich 1976). Zur Reduktion von Peroxiden benötigen sie ein elektronenlieferndes Cosubstrat.

Die größte Bedeutung kommt den Glutathionsperoxidasen zu, die reduziertertes Glutathion als Cosubstrat verwenden, und von denen eine selenhaltige und eine nicht selenhaltige Form bekannt ist (Flohé 1979).

Sie katalysieren folgende Reaktionen:



Ein Selenmangel, wie er bei Pflanzenfressern vorkommt, beraubt die Tiere des Schutzes vor den Lipidoxidradikalen (Remmer 1982). Dieser Zustand kann auch dann eintreten, wenn nicht genügend reduziertes Glutathion als Cosubstrat verfügbar ist, bzw. wenn die Reduktion des oxidierten Glutathion nicht in ausreichendem Maße erfolgt. Da die Reduktion des Glutathion durch die Glutathion-Reduktase NADPH als Cosubstrat erfordert, kann auch ein Mangel des Enzyms Glucose-6-phosphat-dehydrogenase, der beim Menschen als erblicher Enzymdefekt vorkommt, verhängnisvoll sein (Remmer 1982).

1.5.4.3 Superoxiddismutasen

Die Superoxiddismutasen fangen das während der Peroxidation entstehende Superoxidanion-radikal ($O_2^{\bullet -}$) nach folgender Reaktionsgleichung ab:



Sie wirken mit den Catalasen und Peroxidasen (s.o.) zusammen. Es sind kupfer-, eisen-, zink- und manganhaltige Superoxiddismutasen bekannt; im tierischen Organismus kommen jedoch nur die kupfer- und zinkhaltigen vor (Fridovich 1976). Sie sind identisch mit einer Reihe bekannter kupferhaltiger Proteine, z.B. Cerebro-, Erythro- und Hepatocuprein (Fridovich 1976). Durch die Aktivität der Superoxiddismutasen wird der Organismus vor den aus $O_2^{\bullet -}$ -Radikalen und Wasserstoffperoxid via Haber-Weiss-Reaktion (s.o.) entstehenden hochreaktiven $HO^{\bullet}$ -Radikalen geschützt. Die Superoxiddismutasen spielen u.a. eine kritische Rolle beim Schutz der Lunge vor überschießender $O_2^{\bullet -}$ -Radikal-Freisetzung bei chronischen Entzündungen (Frank 1983). Ein Präparat zur intraartikulären Injektion (Peroxinorm^R) ist im Handel.

2 Halothan

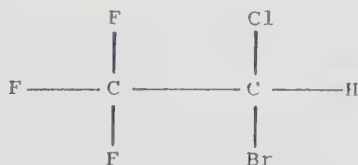
2.1 Allgemeines

Halothan wurde Anfang der 50er Jahre bei der systematischen Suche nach einem nicht brennbaren und nicht explosiven Inhalationsnarkotikum entdeckt (Büch und Büch 1980) und hat seither weite Verbreitung in der Human- und Tiermedizin gefunden.

Bis zu den Berichten von Van Dyke et al. (1964; 1965), in denen eine Biotransformation von Halothan beschrieben wird, war man der Meinung, das Halothan zwar pharmakologisch aktiv, metabolisch jedoch inert sei und unverändert pulmonal wieder ausgeschieden werden würde (Dykes 1973). Erst nach dem Auftreten vereinzelter Hepatitisfälle mit Ikterus, Temperaturanstieg und Lebernekrosen nach Halothan-Narkosen konzentrierten sich die Untersuchungen auf Metabolisierungsreaktionen bzw. mögliche lebertoxische Metaboliten des Halothanes (Vaughan et al. 1979).

2.2 Physikalische und chemische Eigenschaften

Halothan ist eine klare, süßlich riechende Flüssigkeit. Es ist chemisch 2-Brom-2-chlor-1,1,1-trifluorethan und hat nachstehende Strukturformel (Windholz et al. 1976):



Seine physikalischen Eigenschaften werden wie folgt angegeben (Larsen 1972; Windholz et al. 1976):

Molekülmasse	197,39
Siedepunkt (bei 760 mm Hg)	50,2 °C
Dampfdruck (20 °C)	32197,26 Pa
Dichte (d_4^{20})	1,871 kg/l
Untere Explosionsgrenze (in O ₂)	17 Vol%
Löslichkeit in H ₂ O (bei 37 °C)	0,345 g/100 g

Die Verteilungskoeffizienten von Halothan betragen nach Büch und Büch (1980):

Verteilungskoeffizient	Blut/Gas	2,3
"	Öl/Blut	330
"	Gehirn/Blut	2,6
"	Fett/Blut	60

Halothan ist somit kaum wasser-, aber gut lipidlöslich. Es zersetzt sich bei Zutritt von Licht und Luft zu Brom und flüchtigen Säuren, weshalb es in dunklen Glasbehältern unter Zusatz von 0,01 Vol% Thymol als Stabilisator aufbewahrt wird (Büch und Büch 1980).

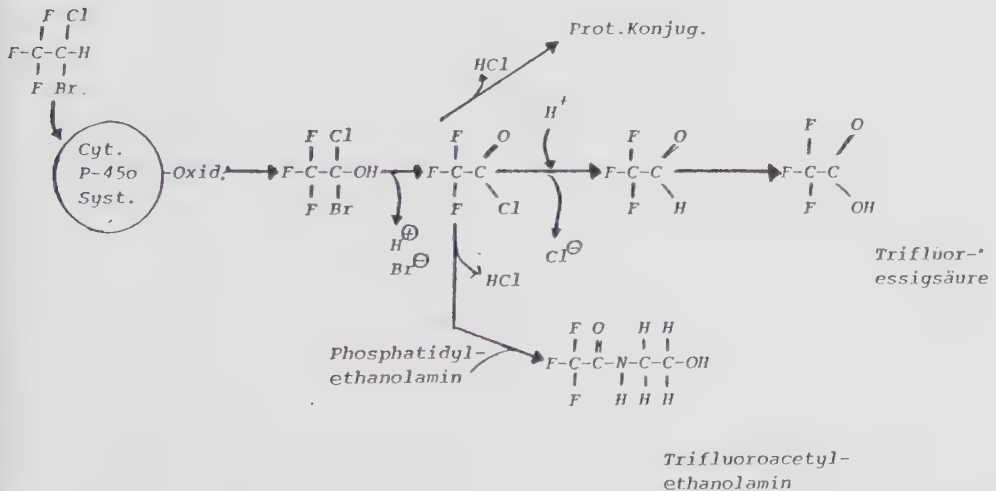
2.3 Metabolisierung

Halothan wird im Organismus von den mischfunktionellen Monooxygenasen metabolisiert und dabei sowohl oxidiert als auch reduziert.

2.3.1 Oxidative Metabolisierungsreaktionen

Die Oxidation von Halothan wird von Cohen et al. (1975), Cousins et al. (1979) und Reynolds und Moslen (1980) folgendermaßen beschrieben: Der erste Reaktionsschritt ist eine Hydroxylierung, gefolgt von einem spontanen Verlust

von Bromwasserstoff, wonach Trifluoracetylchlorid übrigbleibt. Dies kann dann unter Chloridabspaltung über Trifluoracetaldehyd zu Trifluoressigsäure weiterreagieren. Andererseits kann das Trifluoracetylchlorid auch Protein-konjugate bilden, bzw. mit anderen zellulären Molekülen wie Phosphatidyl-ethanolamin reagieren und eine kovalente Bindung mit dessen Aminogruppe eingehen. So entsteht unter Mitwirkung von Phospholipase N-Trifluoracetyl-ethanolamin. Die oxidative Metabolisierung von Halothan ist in folgendem Schema (nach Reynolds und Moslen 1980) zusammengefaßt:



Die Metaboliten Trifluoressigsäure und Bromidionen (Rehder et al. 1967; Stier 1964; Stier et al. 1964; Van Dyke 1972), wurden im Urin nachgewiesen.

2.3.2 Reduktive Metabolisierungsreaktionen

Die reduktive Metabolisierung von Halothan wird von Cohen et al. (1975), Reynolds und Moslen (1980) und Sharp et al. (1979) folgendermaßen beschrieben: Es werden zwei Abbaupfade unterschieden, wobei der erste mit einer Bromid- und der zweite mit einer Fluoridabspaltung beginnt.

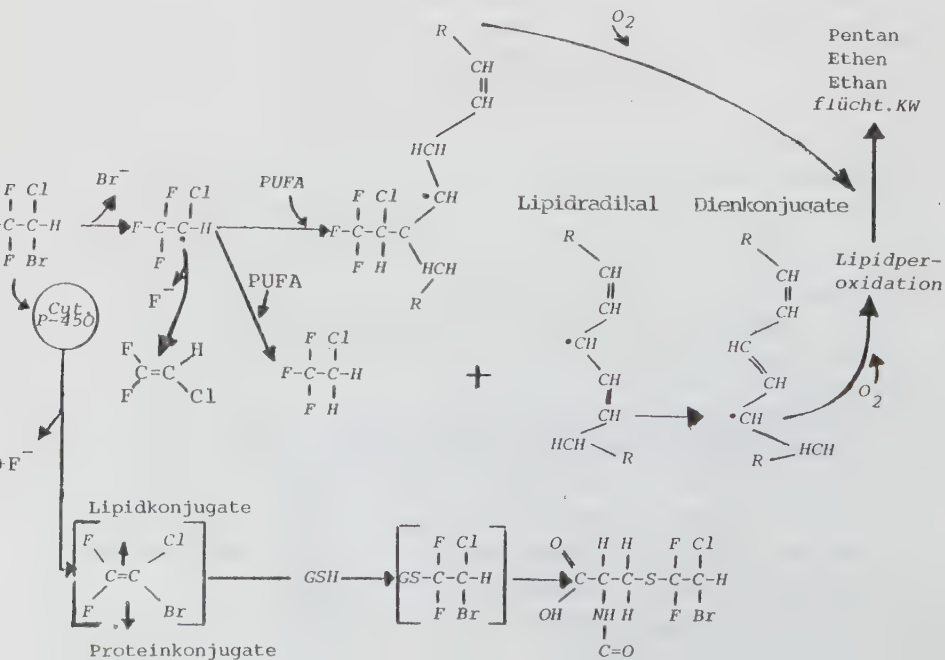
Der erste Abbaupfad führt über eine reduktive Bromabspaltung

zur Bildung eines Halothanradikals, welches mit polyungesättigten Fettsäuren (PUFA) durch Wasserstoffabstraktion bzw. Ausbildung einer Additionsverbindung eine Lipidperoxidation einleiten kann.

Außerdem kann Halothan Fluorid eliminieren und 2-Chlor-1,1-difluorethylen (Sharp et al. 1979) bilden und dann kovalent in zelluläre Moleküle (Lipide, Proteine usw.) integriert werden (Nastainczyk et al. 1978; Holaday 1977).

Der zweite Metabolisierungsweg führt über eine Fluorwasserstoffabspaltung zu hochreaktivem 2-Brom-2-chlor-1,1-difluorethylen (Sharp et al. 1979). Das letztere reagiert rasch mit Gluthation zu einer Konjugationsverbindung, kann aber auch Lipid- und Proteinkonjugate bilden. Durch Spaltung des Gluthationteils dieses Moleküls und Acetylierung kann schließlich N-Acetyl-S-(2-brom-2-chlor-1,1-difluorethyl)-L-cystein entstehen (Sakai und Takaori 1978).

Die reduktiven Abbauewege sind im folgenden Schema (nach Reynolds und Moslen 1980) zusammengefaßt:



Die abgespaltenen Halogenidionen konnten von verschiedenen Autoren im Blut nachgewiesen werden (DeMoor et al. 1978; Sakai und Takaori 1978; Tinker et al. 1976).

2.4 Nebenwirkungen

2.4.1 Klinische Nebenwirkungen

Die wichtigste Nebenwirkung bei Verabreichung von Halothan ist die sog. "Halothan-Hepatitis", die mit einer Häufigkeit von 1:10.000 (Marshall und Wollman 1980) auftritt, besonders gehäuft nach wiederholten Halothan-Narkosen und/oder Halothan-Narkosen mit Sauerstoffmangel (Reynolds und Moslen 1980). Nach Neuberger und Davis (1983) ist dabei eine leichte Form der Halothan-Hepatitis bekannt, die bei etwa 20% der Halothan-Narkosen vorkommt und vermutlich der Schädigung der reaktiven Metaboliten zugeschrieben werden kann. Davon klar abgegrenzt ist die schwere Form der Halothan-Hepatitis, die weit seltener ist, besonders nach wiederholten Halothan-Narkosen auftritt, zu einer massiven Zerstörung von Leberzellen führt und durch Immunozyten zustande kommen soll. Möglicherweise ist die Addition von reaktiven Halothanmetaboliten an Makromoleküle für die Ausbildung von Allergenen verantwortlich.

Die Lebertoxizität von Halothan ist bei chronischer Applikation niedriger Konzentrationen ausgeprägter als bei akuter Anwendung einer hohen Dosis (Chang und Katz 1977; Hughes und Lang 1972; Stevens et al. 1975). Dies hat eine große Bedeutung im Hinblick auf die Gefährdung des Operationspersonals.

Eine halothanspezifische Nierenschädigung ist bislang nur bei Ratten nach chronischer Verabreichung subanästhetischer Konzentrationen bekannt (Chang et al. 1975; Chang und Katz 1977). Beim Menschen treten Schädigungen der Niere nicht auf (Hitt und Mazze 1978). Dasselbe trifft für die Schädigung des Gehirns zu (Chang 1977).

Die Ursache der malignen Hyperthermie, die als Komplikation nach Halothan-Narkosen auftreten kann ist noch ungeklärt. Man vermutet eine funktionelle oder morphologische Myopathie (Gullotta et al. 1978; Mitchell et al. 1980) bzw. eine Störung der Durchblutung nach Serotoninfreisetzung aus geschädigten Thrombozyten (Jageneau et al. 1983) mit Beeinträchtigung der Wärmeableitung durch das strömende Blut. Möglicherweise könnten auch pyrogene Zelltrümmer die Ursache der malignen Hyperthermie sein (Schmid 1982a).

Cancerogene Eigenschaften von Halothan konnten bis jetzt bei Versuchstieren noch nicht beobachtet werden (Baden et al. 1979).

2.4.2 Morphologische Nebenwirkungen

Die Leberschäden nach Halothanverabreichung bestehen in ausgedehnten Schwellungen und Nekrosen der Leberzellen, besonders im Zentralbereich der Leberläppchen, und in Alterationen der Gallenkapillaren (Chang 1977; Chang et al. 1975; Chang und Katz 1977). Die Veränderungen sind nicht von einer Virushepatitis zu unterscheiden (Holaday und Fisero-va-Bergerova 1979).

2.4.3 Biochemische Nebenwirkungen

In pathologisch veränderten Geweben wurden auf subzellulärer Ebene Schädigungen festgestellt, die insgesamt als Folge von Membranschädigungen aufgefaßt werden können. So fanden Chang und Katz (1977) bei Ratten, die 4 bis 8 Wochen Halothankonzentrationen von 10 bis 500 ppm ausgesetzt waren, unter dem Elektronenmikroskop Veränderungen der Plasmamembran, des endoplasmatischen Retikulums, der Mitochondrien, des Golgi-Apparates und der Kernmembran in Leber-, Nieren- und Gehirnzellen. Veränderungen am endoplasmatischen Retikulum und an den Mitochondrien von Leberzellen (Chang et al. 1975) und an den Lysosomen- und Mitochondrienmembranen von Nierenzellen (Chang et al. 1975) wurden auch in anderen Untersuchungen gefunden.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1 Problemstellung

Gegenstand der eigenen experimentellen Untersuchungen ist die Wirkungsbeeinflussung von radikalischen Halothanmetaboliten und ihren Folgeprodukten.

In diesem Zusammenhang sind Versuche mit Mäusen durchgeführt worden, wobei

- a) der Partialdruck der Atemluft und
- b) die Aktivität der mischfunktionellen Monooxygenasen modifiziert sowie
- c) sogenannte "Radikalfänger" eingesetzt wurden.

Als Untersuchungsparameter sind zelluläre Schädigungsprodukte der Halothanmetaboliten quantitativ bestimmt worden. Es handelt sich dabei um gaschromatographisch erfaßte kurzkettige Kohlenwasserstoffe in der Expirationsluft (Riely et al. 1974) und spektrophotometrisch gemessenen Malondialdehyd in der Leber der Versuchstiere (Terao und Matsushita 1981).

2 Versuchsplan

Die im vorstehenden Zusammenhang durchgeführten Versuche sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tab. 1: Zusammenfassung der eigenen Untersuchungen

Versuche	
<u>Kontrollversuche ohne Versuchstiere</u>	
Blindwerte mit synthetischer Luft	+
Referenzgase in synthetischer Luft	+
Halothan in synthetischer Luft	+

Fortsetzung Tab. 1:

Versuche	Mäuse ♀	♂	Versuch tiere gesamt
<u>Kontrollversuche mit Versuchstieren</u>			
Unbehandelte Tiere in synthetischer Luft	+	+	16
Paraffinbehandelte Tiere in synth. Luft	+	+	32
<u>Testversuche mit Versuchstieren</u>			
Halothanbehandelte Versuchstiere in synthetischer Luft	+	+	320
Halothanbehandelte Versuchstiere in 15% O ₂	+	-	176
Halothanbehandelte Versuchstiere in 17,5% O ₂	+	-	176
Halothanbehandelte Versuchstiere in 22,5% O ₂	+	-	176
Halothanbehandelte Versuchstiere in 100% O ₂	+	-	176
Halothanbehandelte Versuchstiere in synthetischer Luft nach Vorbehandlung mit Metyrapon	+	-	176
Halothanbehandelte Versuchstiere in synthetischer Luft nach Vorbehandlung mit (+)-Cyanidanol-3	+	-	176

+: untersucht; -: nicht untersucht

3 Untersuchungsmethodik

3.1 Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung

Als Versuchstiere dienten konventionell gehaltene männliche und weibliche weiße Mäuse aus der Zucht des Institutes mit einer durchschnittlichen Körpermasse von 30 g. Die Tiere erhielten bis zum Versuchsbeginn die Haltungsdiät für Ratten und Mäuse der Firma ALMA, Kempten im Allgäu, und aqua font. ad libitum.

Das Futter hatte folgende Zusammensetzung bzw. Eigenschaften nach Angaben des Herstellers:

Umsetzbare Energie	11360 Joule/kg
Zusammensetzung	(Masse % in der Diät)
Mais	32,0
Weizen	20,0
Sojaschrot, extr.	18,0
Maisarin	10,0
Luzernegrüngrasmehl	6,0
Fischmehl	3,0
Melasse	3,0
Dorschmehl	2,0
Mineralstoffmischung	2,0
Vitamin-Vormischung	2,0
Magermilchpulver	1,0
Futterfett	1,0

Rohnährstoffe (Masse % in der Diät)

Rohprotein	20,0
Rohasche	7,0
Rohfaser	5,0
Rohfett	4,0

Mineralstoffe (g/kg Diät)

Calcium	10,0
Phosphor	7,4
Natrium	5,1
Magnesium	2,4
Kalium	9,3

Spurenelemente (mg/kg Diät)

Eisen	50
Mangan	50
Zink	12
Kupfer	5
Jod	0,2

Vitaminzusätze (mg/kg Diät, wenn nicht anders angegeben)

Vit. A	15000	I.E.
Vit. D ₃	500	I.E.
Vit. E	150	
Vit. K ₃	10	
Vit. B ₁	10	
Vit. B ₂	20	
Vit. B ₆	15	
Vit. B ₁₂	30	mcg
Ca-D-Pantothenat	50	
Nicotinsäure	50	
Cholin	1000	
Folsäure	5	
Biotin	60	mcg
Vit. C	50	

Aminosäuren (g/100 g Rohprotein)

Lysin	6,1	
Lysin, verfügbar	2,8	
Methionin + Cystein	4,2	(50% Methionin)
Phenylalanin + Tyrosin	9,0	(60% Phenylalanin)
Arginin	6,8	

Histidin	2,4
Tryptophan	1,3
Threonin	4,0
Isoleucin	4,7
Leucin	9,4
Valin	5,2

3.2 Gewinnung der Expirationsluft

Zur Gewinnung der Expirationsluft wurden die Versuchstiere in einen Glasexsikkator mit einem Leervolumen von 850 ml gesetzt, der über ein Sperrventil mit hochgereinigtem Sauerstoff (99,995 Vol%; LINDE, Unterschleißheim) bei druckloser Zufuhr versorgt wurde. Zur CO₂-Absorption wurde der Exsikkator vor Versuchsbeginn mit 100 g Atemkalk (DRÄGER-Werke, Lübeck) beschickt, wobei das absorbierte Kohlendioxid durch nachströmenden Sauerstoff ersetzt wurde. Die Gasentnahme aus dem Exsikkator erfolgte mit 10 ml-Einwegspritzen, wobei die Nadel der leeren Spritze durch ein Silikongummiseptum in den Exsikkator eingeführt und die Spritze durch mehrfaches Hin- und Herbewegen des Spritzenstempels gespült wurde. Anschließend wurden 10 ml Gas entnommen und 5 ml davon zur Analyse auf kurzkettige Kohlenwasserstoffe verwendet.

3.3 Chemikalien und Referenzgase

Folgende Chemikalien und Referenzgase sind bei den eigenen Untersuchungen verwendet worden:

- a) Halothan als Halothan Hoechst^(R) (CF₃CHBrCl)
HOECHST AG, Ffm
- b) Paraffin (Paraffin flüssig)
MERCK, Darmstadt
- c) Methan (CH₄), Ethan (C₂H₆), Propan (C₃H₈),
n-Butan (C₄H₁₀), Ethen (C₂H₄), Propen (C₃H₆),
cis-2-Buten und trans-2-Buten (C₄H₈), je 100 µl/l N₂
als Prüfgas
LINDE, Unterschleißheim
- d) Sauerstoff (O₂), 99,995 Vol%
Stickstoff (N₂), 99,9995 Vol%

Synthetische Luft (20 Vol% O₂ und 80 Vol% N₂) mit
einem Kohlenwasserstoffanteil von 5 µl/l

LINDE, Unterschleißheim

- e) Atemkalk als Dräger-Sorb, Ch 00052,
vor Versuchsbeginn 1 h lang auf 100 °C erhitzt
DRÄGERWERKE AG, Lübeck
- f) Metyrapon (Metopiron^(R)), wurde uns freundlicherweise
von der Firma CIBA-GEIGY, Wehr-Baden überlassen
- g) (+)-Cyanidanol-3 wurde uns dankenwerterweise von der
Firma ZYMA GmbH, München zur Verfügung gestellt
- h) Trichloressigsäure (CCl₃COOH) pro analysi;
Verwendung als 70%ige wässrige Lösung (Masse/Volumen)
MERCK, Darmstadt
- i) 2-Thiobarbitursäure (C₄H₄N₂O₂S · H₂O),
Reagenz auf Sorbinsäure
Verwendung als 0,8%ige wässrige Lösung (Masse/Volumen)
MERCK, Darmstadt
- j) n-Hexan (C₆H₁₄) pro analysi
MERCK, Darmstadt
- k) Malondialdehyd-bis-(diethylacetal) (C₁₁H₂₄O₄),
zur Synthese
MERCK-SCHUCHARDT, Hohenbrunn b. München
- l) Eisensulfat (FeSO₄ · 7H₂O) pro analysi;
Verwendung als 0,278 %ige wässrige Lösung (Masse/Volumen)
MERCK, Darmstadt

3.4 Versuchsdurchführung

Die Tierversuche wurden jeweils mit 4 Mäusen durchgeführt.
Sämtliche Wirkstoffe und/oder Paraffin wurden intra-
peritoneal zugeführt. Das Applikationsvolumen betrug bei
Paraffin sowie Halothan in Paraffin, bei Metyrapon in

Paraffin und (+)-Cyanidanol-3 in aqua dest. stets 5 ml pro Kilogramm Körpermasse. Die Dosierung von Halothan wurde in zehn Dosen von 125 mg bis 1250 mg vorgenommen. Nach der Applikation wurden die Tiere unmittelbar in einen Exsikkator eingesetzt, in dem sie auf einem Drahtnetz über dem Atemkalk saßen. Anschließend wurde der Exsikkator, dessen Nettovolumen (Volumen minus Versuchstier- und Atemkalkvolumen) ca. 630 ml betrug, 5 Minuten lang mit synthetischer Luft gespült und schließlich an die Sauerstoffversorgung angeschlossen. Nach 180 Minuten Akkumulationsdauer wurde die Exspirationsluft zur Analyse entnommen.

Nach der Exposition im Exsikkator wurden die Mäuse mit Stickstoff betäubt, dekapitiert und entblutet. Danach ist ein Teil der Leber zur Malondialdehydbestimmung entnommen worden.

3.5 Malondialdehydbestimmung

Bei der Malondialdehydbestimmung (Terao und Matusushita 1981) wurden von jeder Versuchsgruppe 4 mal 0,5 g vorbereitete Leber in 2 ml Thiobarbitursäure suspendiert und 60 Sekunden lang bei ca. 15000 U/min homogenisiert (Ultra Turrax). Darauf wurden 0,5 ml des Leberhomogenates mit 2 ml Thiobarbitursäurelösung und 2 ml Trichloressigsäurelösung sowie 1 ml Eisen-II-Sulfat gemischt und 30 Minuten lang im siedenden Wasserbad unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen ist das Homogenat mit Trichloressigsäurelösung auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt, mit 5 ml Hexan 1 Minute lang ausgeschüttelt und zur Phasentrennung 6 Minuten lang bei 6000 U/min zentrifugiert worden. Anschließend wurde die aldehydspezifische Absorption der klaren wässrigen Phase bei 535 nm und einer Schichtdicke von 1 cm photometrisch bestimmt.

3.6 Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas

Die Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas erfolgte mit einem Gaschromatographen der Firma Carlo Erba (Frac-tovap 4100) unter Verwendung eines Flammenionisations-detektors der mit Wasserstoff und synthetischer Luft be-trieben wurde. Als Trennsäule diente eine 5 m lange Stahlsäule, Innendurchmesser 3 mm, mit einer Füllung von 2% Carbowax 20 M auf Porasil C der Korngröße 80-100 mesh. Die Arbeitstemperaturen betrugen bei der Säule 50 °C und beim Detektor 120 °C. Als Trägergas diente nachgereinigter Stickstoff mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 30 ml/min. Die Kohlenwasserstoffe der Gasproben wurden als Peaks auf-gezeichnet, die als Konzentrationsparameter ausgewertet wurden.

3.7 Beeinflussung der metabolisierenden Enzyme

Die Aktivität der mischfunktionellen Monooxygenasen ist durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit Metyrapon ge-hemmt worden. Dazu wurde der Enzymhemmstoff 1 Stunde vor Versuchsbeginn in einer Dosis von 100 mg/kg Körpermasse intraperitoneal verabreicht.

3.8 Beeinflussung des Sauerstoffpartialdruckes

Zur Untersuchung des Sauerstoffeinflusses auf die meta-bolische Radikalbildung aus Halothan ist der Sauerstoffpartialdruck der Atemluft variiert worden. Dabei ist ein in die Sauerstoffversorgung integrierter Gasbehälter zu-nächst mit Stickstoff gespült bzw. gefüllt und danach das beabsichtigte Sauerstoffvolumen unter Stickstoffverdrän-gung hinzugefügt worden.

3.9 Verabreichung von Cyanidanol

Das als "Radikalfänger" eingesetzte (+)-Cyanidanol-3 wur-de in einer Dosis von 200 mg/kg Körpermasse 12 Stunden vor der Verabreichung von Halothan in wässriger Lösung intra-peritoneal appliziert.

4 Versuchsauswertung

Die Gaschromatogramme des Exsikkatorgases sind qualitativ und quantitativ auf flüchtige Kohlenwasserstoffe ausgewertet worden. Die malondialdehydspezifischen Extinktionsbestimmungen wurden quantitativ ausgewertet.

4.1 Kohlenwasserstoffbestimmung

4.1.1 Qualitative Auswertung

Die Identifizierung des Ethans in den Chromatogrammen des Exsikkatorgasses erfolgte anhand von Retentionszeit und Peakvergrößerung (Spiking) mit Hilfe eines Referenzgases.

4.1.2 Quantitative Auswertung

Die quantitative Versuchsauswertung erfolgte anhand einer Eichkurve, welche die Peakflächen als Funktion der Ethankonzentration im Exsikkator- oder Referenzgas darstellt. Es ergab sich dabei ein linearer Zusammenhang zwischen Gaskonzentration und Peakfläche, der durch eine Regressionsgleichung der allgemeinen Form

$$F = a + bC \text{ (cm}^2\text{)}$$

mit a, b : Konstanten (substratspezifisch)

C : Gaskonzentration ($\mu\text{l/l}$)

F : Peakfläche (cm^2)

beschrieben werden konnte. Zur experimentellen Ermittlung der Eichkurve sind die Peakflächen von 5 verschiedenen Ethankonzentrationen in synthetischer Luft je 6 mal mit dem in Abbildung 1 dargestellten Ergebnis bestimmt worden.

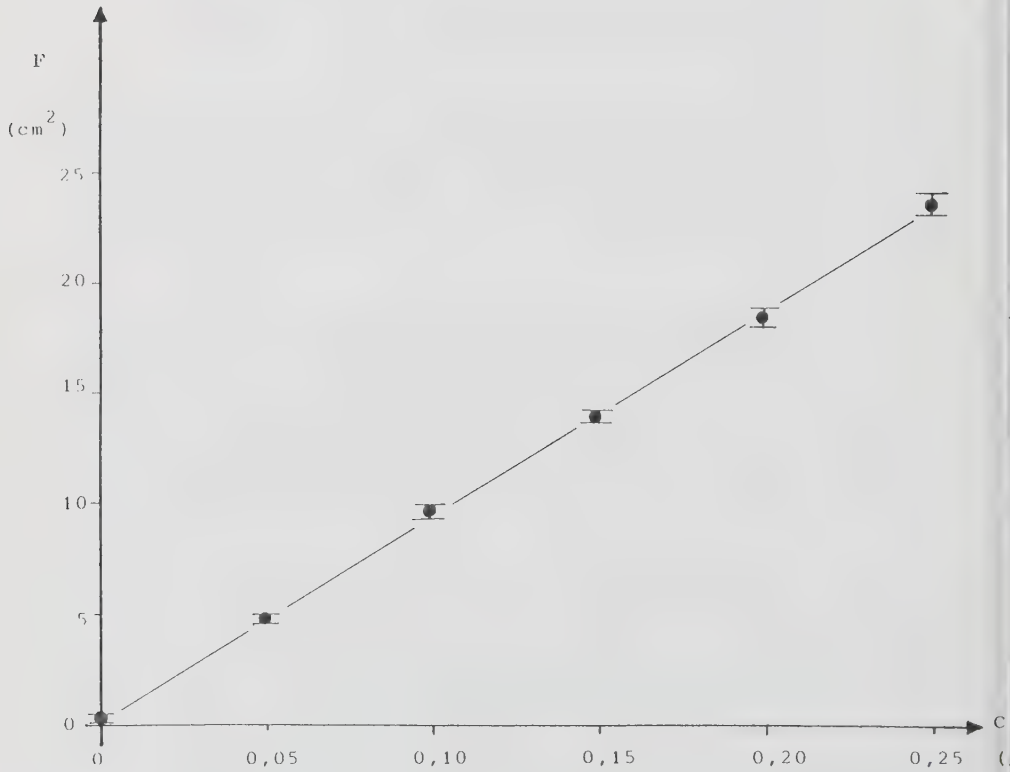


Abb. 1: Eichkurve für Ethan ($\bar{x}_{-s_{-}}$)
x

Die stoffspezifischen Konstanten, die aus den Meßwerten berechnet wurden, und der Korrelationskoeffizient (r) für den Zusammenhang zwischen Peakfläche und Gaskonzentration sowie die statistische Beurteilung des Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2: Eichkurvenparameter für Ethan und deren statistische Beurteilung

	Regression		Korrelation	
	a	b	r	p
Gas				
CH_3-CH_3	0,2841	92,28	0,9994	$\ll 0,001$

p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Der Tabelle ist zu entnehmen, daß der o.g. lineare Zusammenhang zwischen Kohlenwasserstoffkonzentration und Peakfläche statistisch gut gesichert ist.

Anhand der ermittelten Regression ist die während der Versuchsdauer im Exsikkator akkumulierte Kohlenwasserstoffmenge (M) pro kg Versuchstier nach folgender Formel berechnet worden (Schmid 1982a):

$$M = \frac{44,64 \cdot (F-a) \cdot V}{b \cdot TM} \quad (\text{nmol/kg} \cdot t)$$

wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:

- a,b: Regressionskoeffizienten aus Tabelle 2
- F: Peakfläche (cm²)
- TM: Gesamtmasse der Versuchstiergruppe (g)
- M: Kohlenwasserstoffmenge (nmol/kg·t)
- t: Versuchsdauer (min); hier 180 Minuten
- V: Nettovolumen des Exsikkators (ml)

4.2 Malondialdehydberechnung

Die Malondialdehydberechnung basiert auf der quantitativen Auswertung der Absorption des Malondialdehyd-Thio-barbitursäurepigments bei 535 nm (Ottolenghi 1959). Sie erfolgte ebenfalls mit einer Eichkurve, die mit Malondialdehyd-bis-(diethylacetal) als Referenzsubstanz erstellt worden ist. Der sich dabei ergebende Zusammenhang zwischen der Malondialdehydkonzentration und der Extinktion bei 535 nm läßt sich durch folgende Regressionsgleichung beschreiben:

$$E = a + bC$$

wobei die einzelnen Symbole folgende Bedeutung haben:

- E: Extinktion bei 535 nm und einer Schichtdicke von 1 cm (E₅₃₅)
- a,b: Pigmentspezifische Regressionskoeffizienten
- C: Malondialdehydkonzentration (nmol/5,5 ml)

Die aus den experimentellen Meßwerten berechneten Regressionskoeffizienten (a,b) und der Korrelationskoeffizient (r) für den Zusammenhang zwischen Extinktion und Malondialdehydkonzentration sowie die statistische Beurteilung des Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tab. 3: Eichkurvenparameter für Malondialdehyd und deren statistische Beurteilung

Regression		Korrelation	
a	b	r	p
0,1123	0,0280	0,9969	<0,001

In Abbildung 2 ist die dazugehörige Eichkurve graphisch dargestellt.

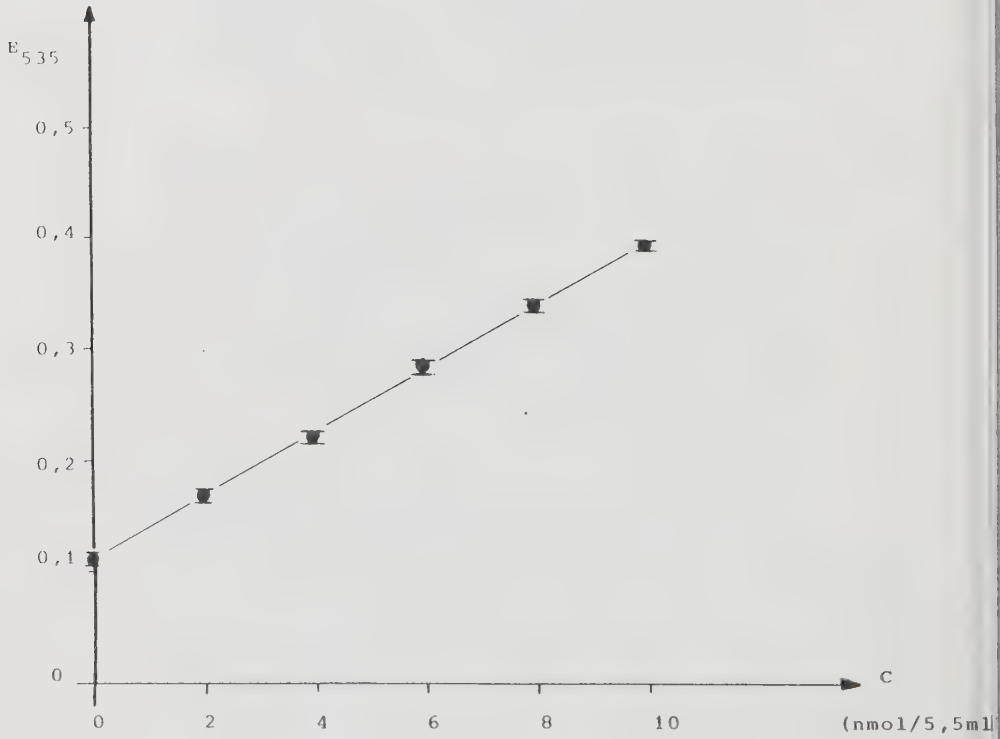


Abb. 2: Eichkurve für Malondialdehyd ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Mit Hilfe der Eichkurve ist die während des Versuchs gebildete Malondialdehydkonzentration der Leber nach folgender Formel berechnet worden (Beuter 1981).

$$C_{Le} = \frac{4 \cdot (E-a)}{b} \quad (\text{nmol/g})$$

Die verwendeten Symbole haben folgende Bedeutung:

- C_{Le} : Malondialdehydkonzentration der Leber (nmol/g)
 E: Extinktion
 a,b: Regressionskoeffizienten (Tab. 3)

4.3 Flächenberechnung der Dosis-Wirkungskurven

Da sich mehrgipflige Dosis-Wirkungskurven nicht miteinander vergleichen lassen, wurden die Flächen der zu vergleichenden Kurven berechnet und verglichen. Das Prinzip besteht in der Berechnung einer Fläche unter einem Polygonenzug, die nach folgenden Formeln erfolgt ist (Beuter 1983):

$$DWF = 125 \cdot \left(\frac{w_0}{2} + \frac{w_{10}}{2} + w_1 + \dots + w_9 \right)$$

$$KF = w_0 \cdot 1250$$

$$WF = 125 \cdot \left(\frac{w_0}{2} + \frac{w_{10}}{2} + w_1 + \dots + w_9 \right) - (w_0 \cdot 1250)$$

wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:

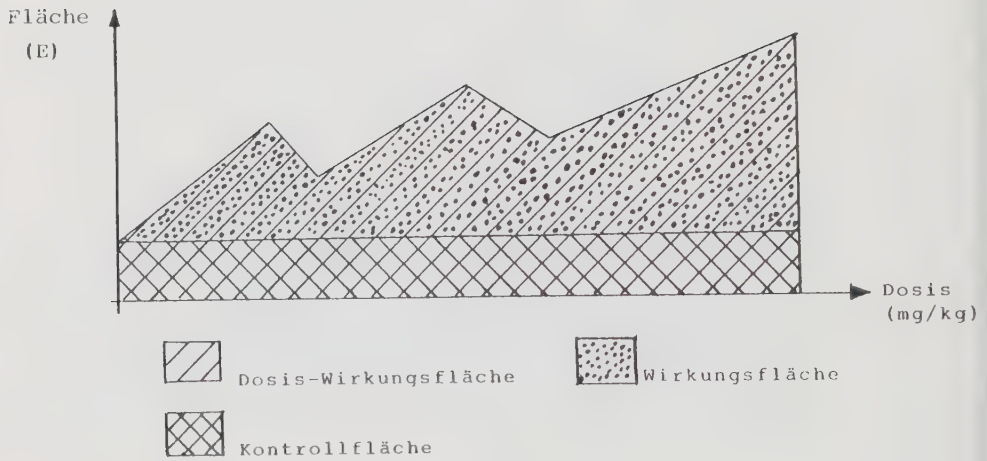
DWF = Dosis-Wirkungsfläche

KF = Kontrollfläche

WF = Wirkungsfläche, ergibt sich aus DWF-KF

w_0 = Kontrollwerte

w_1 bis w_{10} = Testwerte



E für die Kohlenwasserstoffbildung: $\text{nmol} \cdot \text{mg} / \text{kg}^2 \cdot \text{t}$

E für die Malondialdehydbildung: $\text{nmol} \cdot \text{mg} / \text{g} \cdot \text{kg} \cdot \text{t}$

Abb. 3: Graphische Darstellung der Flächenberechnung mit Dosis-Wirkungs-, Kontroll- und Wirkungsfläche

4.4

Statistische Beurteilung

Zur statistischen Differenzierung der Testwerte ($\bar{x}$) von den Kontrollwerten ($\bar{x}_k$) wurde der Schnelltest nach Lord (Sachs 1978) verwendet. Hierbei werden die Mittelwerte zweier kleiner Stichproben ($n_1 = n_2 \leq 20$) nach folgender Formel verglichen:

$$Q = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\frac{R_1 + R_2}{2}}$$

wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:

$\bar{x}_i$: Arithmetische Stichprobenmittelwerte

R : Variationsbreiten

Im folgenden sind signifikante Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 0,05$ mit * und solche von $p \leq 0,01$ mit ** gekennzeichnet.

5 Ergebnisse

Vor Durchführung der Testversuche mit Halothan wurden

- Blindwerte (keine Versuchstiere im System),
- Halothan - Blindwerte (Halothan im System),
- Vergleichswerte (Kohlenwasserstoffe im System) und
- Blindversuche (unbehandelte Tiere im System) bestimmt.

Diese dienten

- zur Ermittlung der Retentionszeiten von Ethan und Ethen unter den beschriebenen Versuchsbedingungen und
- zum Ausschluß einer nicht radikalinduzierten Kohlenwasserstoffbildung von unbehandelten Tieren oder durch Reaktion von Halothan mit Atemkalk.

5.1 Blindwerte und Blindversuche

5.1.1 Blindwerte

Abbildung 4 zeigt ein typisches Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach 180 Minuten langer Versuchsdauer, wenn sich keine Versuchstiere im Exsikkator befanden. Der Exsikkator war mit Atemkalk beschickt und als Atemgas wurde synthetische Luft verwendet. Der dargestellte Peak repräsentiert keine Kohlenwasserstoffe und ist daher unspezifisch.

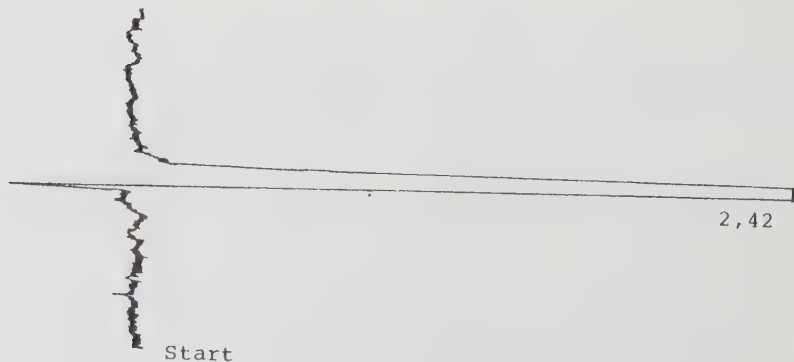


Abb. 4: Gaschromatogramm des Exsikkatorgases bei Blindversuchen ohne Versuchstiere (die Zahlen geben die Bruttoretentionszeiten in min an)

Retentionszeit min	Substanz
2,42	O ₂ und CO ₂ (Einspritzpeak)

5.1.2 Blindwerte mit Halothan

Für die Ermittlung der Blindwerte mit Halothan sind 4,7 µl Halothan in den versuchsfertigen Exsikkator appliziert worden. Nach 180 Minuten wurde eine Gasprobe entnommen. Das Ergebnis ist in dem in Abbildung 5 dargestellten Chromatogramm analysiert.

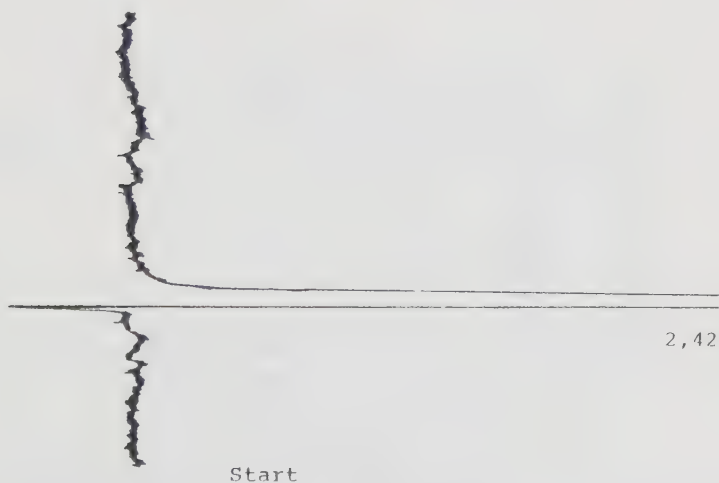


Abb. 5: Gaschromatogramm von Halothan (4,7 µl) in synthetischer Luft (Gesamtvolumen 850 ml)

Retentionszeit min	Substanz
2,42	O ₂ und CO ₂ (Einspritzpeak)

Aus Abbildung 5 ist ersichtlich, daß Halothan unter Versuchsbedingungen zu keiner Spontanbildung von Ethan und Ethen führt. Im weiteren - hier nicht mehr dargestellten - Verlauf des Chromatogramms konnte die Retentionszeit von Halothan mit 212,5 Minuten registriert werden.

5.1.3 Vergleichswerte mit Referenzgasen

Abbildung 6 zeigt ein Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach Spülung mit N_2 und Zumischung von Ethan und Ethen in einer Menge, die zu einer Konzentration von 0,05 $\mu\text{l/l}$ führte. Die Retentionszeiten betragen 3,55 Minuten für Ethan und 3,85 Minuten für Ethen.

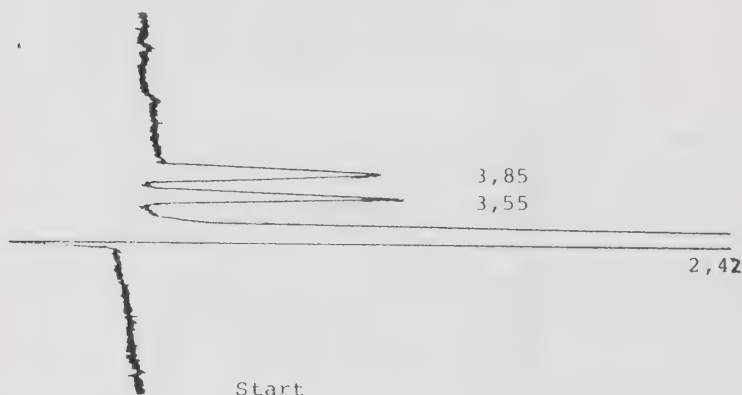


Abb. 6: Gaschromatogramm von Ethan (0,05 $\mu\text{l/l}$) und Ethen (0,05 $\mu\text{l/l}$) in N_2 .

Retentionszeit min	Substanz
2,42	O_2 und CO_2 (Einspritzpeak)
3,55	$CH_3 - CH_3$ (Ethan)
3,85	$CH_2 = CH_2$ (Ethen)

5.1.4 Blindversuche mit unbehandelten Versuchstieren

Abbildung 7 zeigt ein typisches Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach 180 Minuten langer Versuchsdauer mit unbehandelten Versuchstieren. Es wurden Versuche mit männlichen und weiblichen Versuchstieren durchgeführt, jedoch nur ein Chromatogramm weiblicher Mäuse abgebildet, da die Chromatogramme nahezu identisch waren.

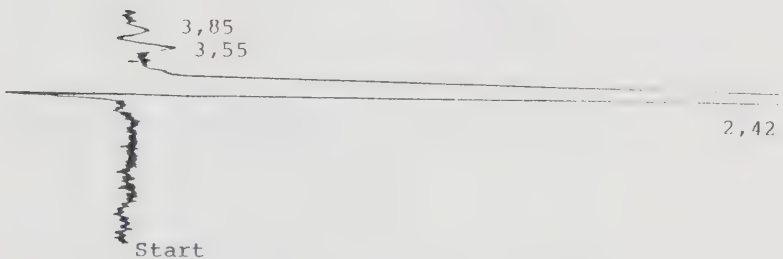


Abb. 7 : Gaschromatogramm der Expirationsluft von unbehandelten weiblichen Mäusen

Retentionszeit min	Substanz
2,42	O ₂ und CO ₂ (Einspritzpeak)
3,55	CH ₃ - CH ₃
3,85	CH ₂ = CH ₂

Ein Vergleich mit den Abbildungen 4 und 6 zeigt, daß zwei Peaks mit Retentionszeiten von 3,55 und 3,85 Minuten, die als Ethan- (3,55 min) bzw. Ethenpeak (3,85 min) identifiziert werden konnten, registriert wurden. Diesem Chromatogramm läßt sich entnehmen, daß auch bei unbehandelten Kontrolltieren eine gewisse Spontanexpirations von Ethan und Ethen erfolgt. Ihre quantitative Bestimmung sowie die Spontanbildung von Malondialdehyd

Parameter		Mäuse ♀
Ethan	n	4
	$\bar{x}$	2,71
	$s_{\bar{x}}$	0,51
Ethen	n	4
	$\bar{x}$	1,91
	$s_{\bar{x}}$	0,36
MDA	n	4
	$\bar{x}$	17,74
	$s_{\bar{x}}$	2,90

Tab. 4: Ethan- und Ethenakkumulation (nmol/kg·180 min) und Malondialdehydnachweis (nmol/g Leber) von unbehandelten Versuchstieren.

n = Stichprobenumfang

$\bar{x}$ = Arithmetischer Mittelwert

$s_{\bar{x}}$ = Standardabweichung von $\bar{x}$

5.2 Chromatogramm der Expirationsluft von Versuchstieren nach Halothanbelastung

Abbildung 8 zeigt ein typisches Gaschromatogramm der Expirationsluft von Versuchstieren, die intra-peritoneal mit 1000 mg/kg Halothan behandelt und während der Versuchsdauer (180 min) in einer Atmosphäre von 15 % O₂ gehalten wurden.

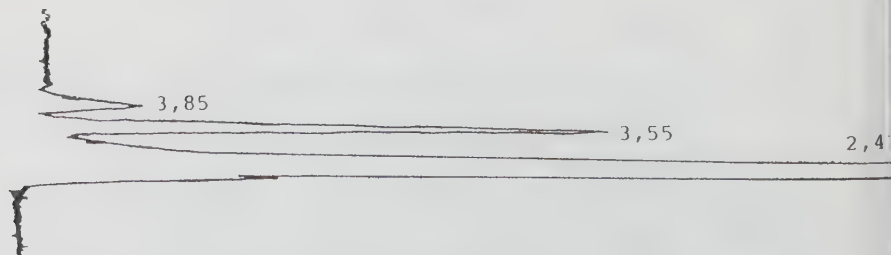


Abb. 8: Gaschromatogramm der Expirationsluft von Versuchstieren nach Halothanbelastung (1000 mg/kg; Atemgas mit

Retentionszeit min	Substanz
2,42	O ₂ und CO ₂ (Einspritzpeak)
3,55	CH ₃ - CH ₃
3,85	CH ₂ = CH ₂

Ein Vergleich mit Abbildung 6 zeigt, daß zwei Peaks mit Retentionszeiten von 3,55 und 3,85 Minuten vorlagen, die als Ethan- und Ethenpeak identifiziert werden konnten. Ein Vergleich mit Abbildung 7 ergibt, daß eine deutliche Akkumulation von Ethan im Exsikkatorgas als Folge der Halothanbehandlung auftrat.

5.3 Testversuche

Bei den Testversuchen wurden die Versuchstiere intraperitoneal mit Halothan belastet, das in Paraffin gelöst war. Der Sauerstoffpartialdruck wurde bei einem Teil der Versuche verändert (15; 17,5; 22,5 und 100 % O₂). Bei weiteren Versuchen erfolgte eine Vorbehandlung mit Metyrapon zur Hemmung der mischfunktionellen Monooxygenasen bzw. mit (+)-Cyanidanol-3, einer Substanz, die freie Radikale inaktivieren kann. Die entsprechenden Kontrollen erhielten nur das Lösungsmittel bzw. die entsprechende Vorbehandlung.

5.3.1 Vergleich der Ethan- und Malondialdehydbildung männlicher Mäuse nach Halothanapplikation mit den Werten weiblicher Versuchstiere

5.3.1.1 Ethanexpiration

Die Testversuche zur Ermittlung von Geschlechtsunterschieden der Ethanakkumulation in der Expirationsluft der Versuchstiere sind in Tabelle 4 und Abbildung 9 dargestellt.

Tab. 5: Ethanakkumulation nach intraperitonealer Applikation von Halothan bei Versuchsdurchführung in synthetischer Luft (20 % O₂) bei männlichen (♂) und weiblichen Mäusen (♀), (n = 4)

Halothandosis (mg/kg)		Ethan (nmol/kg·180 min)	
		Mäuse ♂	Mäuse ♀
0	n	4	4
	$\bar{x}$	4,8	4,25
	$s_{\bar{x}}$	0,3	0,3
125	n	4	4
	$\bar{x}$	7,9	7,6
	$s_{\bar{x}}$	0,6	0,7
250	n	4	4
	$\bar{x}$	11,3	9,9
	$s_{\bar{x}}$	1,0	0,8
375	n	4	4
	$\bar{x}$	14,4	11,3
	$s_{\bar{x}}$	0,5	0,8
500	n	4	4
	$\bar{x}$	13,8	10,8
	$s_{\bar{x}}$	1,0	1,0
625	n	4	4
	$\bar{x}$	8,4	13,0
	$s_{\bar{x}}$	0,6	0,6
750	n	4	4
	$\bar{x}$	12,2	13,8
	$s_{\bar{x}}$	0,9	0,7
875	n	4	4
	$\bar{x}$	14,0	17,1
	$s_{\bar{x}}$	0,7	1,6

Fortsetzung von Tab. 5:

Halothandosis (mg/kg)		Ethan (nmol/kg·180 min)	
		Mäuse ♂	Mäuse ♀
1000	n	4	4
	$\bar{x}$	13,9	16,2
	$s_{\bar{x}}$	0,5	1,3
1125	n	4	4
	$\bar{x}$	15,4	16,9
	$s_{\bar{x}}$	0,2	1,7
1250	n	4	4
	$\bar{x}$	13,8	15,0
	$s_{\bar{x}}$	1,0	1,9
Wirkungs- flächen		Ethan (nmol·mg/kg ² ·t)	
	$\bar{x}$	8898	10196
	$s_{\bar{x}}$	473	366

Der vorstehenden Tabelle läßt sich entnehmen, daß Halothan sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Mäusen eine dosisabhängige Steigerung der Ethanakkumulation verursacht. Die Dosis-Wirkungskurve der Ethanakkumulation zeigt bei den männlichen Tieren, weniger ausgeprägt auch bei den weiblichen Tieren, einen zweigipfeligen Verlauf (s. Abb. 9). Um diese Dosis-Wirkungskurven vergleichen zu können, wurden die Wirkungsflächen (Flächen unter den Dosis-Wirkungskurven minus Kontrollflächen, s. Abb. 3) errechnet, die sich bei beiden Geschlechtern trotz unterschiedlicher Form der Dosis-Wirkungskurven nicht signifikant ($p > 0.05$) unterschieden.

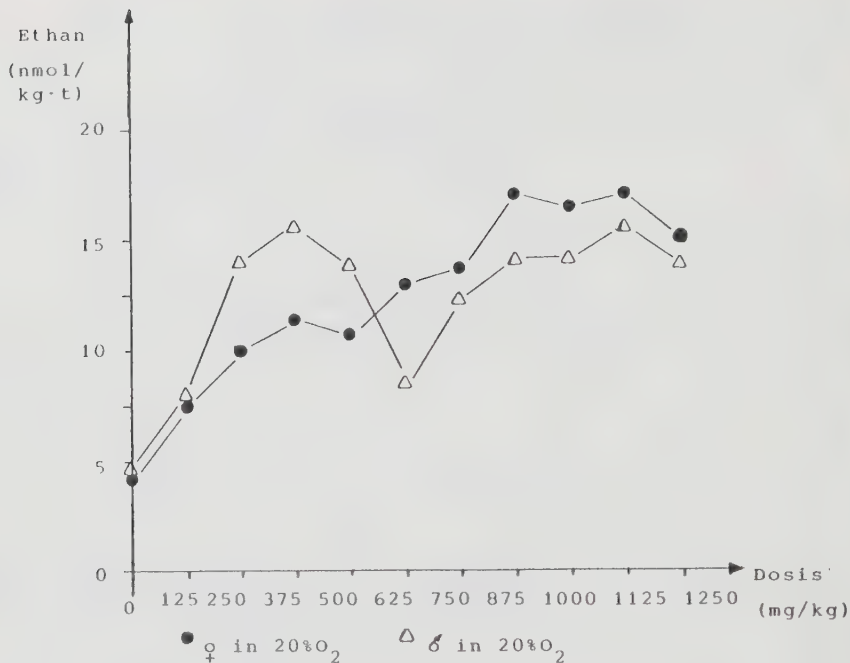


Abb. 9: Dosis-Wirkungsbeziehung der Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach Halothanapplikation an männliche (♂) und weibliche Mäuse(♀)

5.3.1.2 Malondialdehydbildung in der Leber

Die bei männlichen und weiblichen Mäusen nach Versuchsende gemessenen Malondialdehydwerte und die daraus ermittelten Wirkungsflächen sind in Tabelle 6 und Abbildung 10 dargestellt.

Tab. 6: Malondialdehydbildung in der Leber in Abhängigkeit von der Halothandosis bei Versuchsdurchführung in synthetischer Luft (20 % O₂) bei männlichen (♂) und weiblichen (♀) Mäusen

Halothandosis (mg/kg)		MDA (nmol/g.t)	
		Mäuse ♂	Mäuse ♀
0	n	4	4
	$\bar{x}$	22,2	22,2
	$s_{\bar{x}}$	1,1	0,7
125	n	4	4
	$\bar{x}$	26,6	28,0
	$s_{\bar{x}}$	1,5	1,2
250	n	4	4
	$\bar{x}$	29,6	27,3
	$s_{\bar{x}}$	1,7	0,9
375	n	4	4
	$\bar{x}$	35,6	34,2
	$s_{\bar{x}}$	1,9	1,4
500	n	4	4
	$\bar{x}$	29,6	30,3
	$s_{\bar{x}}$	0,8	2,8
625	n	4	4
	$\bar{x}$	25,7	23,9
	$s_{\bar{x}}$	0,9	1,8
750	n	4	4
	$\bar{x}$	35,5	36,2
	$s_{\bar{x}}$	1,2	1,6
875	n	4	4
	$\bar{x}$	30,0	29,6
	$s_{\bar{x}}$	1,0	2,5

Fortsetzung von Tab. 6:

Halothandosis (mg/kg)		MDA (nmol/g·t)	
		Mäuse ♂	Mäuse ♀
1000	n	4	4
	$\bar{x}$	24,5	24,4
	$s_{\bar{x}}$	1,4	0,5
1125	n	4	4
	$\bar{x}$	24,9	19,3
	$s_{\bar{x}}$	1,6	0,5
1250	n	4	4
	$\bar{x}$	26,0	27,0
	$s_{\bar{x}}$	1,0	2,3
Wirkungs- flächen		MDA (nmol·mg/g·kg·180min)	
	$\bar{x}$	8423	6675
	$s_{\bar{x}}$	680	780

Ein Vergleich der Testwerte mit den Kontrollwerten zeigt, daß Halothan eine erhöhte Malondialdehydbildung in der Leber verursacht, wobei die Dosis-Wirkungskurven wieder einen zweigipfeligen Verlauf zeigen.

Die Wirkungsflächen der Malondialdehydbildung zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern ($p > 0,05$).

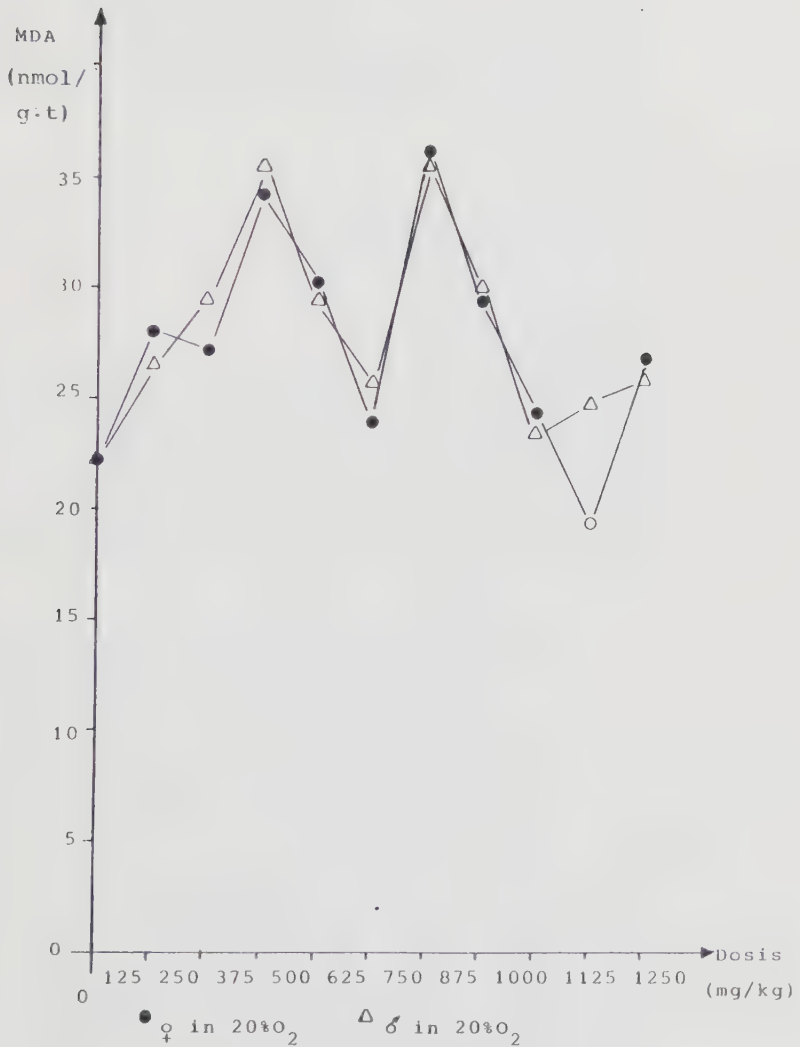


Abb. 10: Malondialdehydbildung (MDA) bei männlichen (♂) und weiblichen (♀) Mäusen in Abhängigkeit von der Halothandosierung.

Da die Wirkungsflächen der Ethan- und Malondialdehydbildung von männlichen und weiblichen Tieren keine signifikanten Unterschiede zeigten, wurden die folgenden Untersuchungen ausschließlich mit weiblichen Tieren durchgeführt.

5.3.2 Halothanbehandlung weiblicher Mäuse bei verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken

5.3.2.1 Ethanexpiration

Die Testversuche und die dazugehörigen Kontrollwerte zur Untersuchung der Ethanexpiration bei Versuchsdurchführung mit verschiedenen O₂-Konzentrationen sind in Tabelle 7 zusammengefaßt. Als Vergleichswerte dienen die Ergebnisse der Versuche, die in synthetischer Luft (20 % O₂) durchgeführt wurden.

Tab. 7: Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach intraperitonealer Applikation von Halothan an weibliche Mäuse bei Sauerstoffpartialdrücken von 15; 17,5; 20; 22,5 und 100 %.

Halothandosis (mg/kg)		Sauerstoffpartialdruck (%)				
		15	17,5	20	22,5	100
0	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	5,0	3,8	4,3	3,3	3,4
	$s_{\bar{x}}$	0,1	1,0	0,3	0,2	0,4
125	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	11,0	7,5	7,6	4,0	5,2
	$s_{\bar{x}}$	1,9	0,5	0,7	0,2	0,8
250	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	8,9	9,9	9,9	7,1	5,0
	$s_{\bar{x}}$	0,6	2,2	0,8	0,6	0,8

Fortsetzung von Tab. 7:

Halothandosis (mg/kg)		Sauerstoffpartialdruck (%)					
		15	17,5	20	22,5	100	
375	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	15,6	20,0	11,3	6,9	8,4	
	$s_{\bar{x}}$	1,7	0,8	0,8	0,2	0,7	
500	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	14,4	18,6	10,8	8,1	8,9	
	$s_{\bar{x}}$	2,3	0,3	1,0	0,7	0,3	
625	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	22,6	21,8	13,0	8,4	7,6	
	$s_{\bar{x}}$	3,4	1,5	0,6	0,6	0,5	
750	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	12,0	16,6	13,8	11,1	12,5	
	$s_{\bar{x}}$	2,7	1,1	0,7	0,8	0,7	
875	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	15,9	14,3	17,1	10,1	15,2	
	$s_{\bar{x}}$	1,3	1,3	1,6	0,9	1,5	
1000	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	21,0	18,5	16,2	10,0	9,0	
	$s_{\bar{x}}$	4,1	1,8	1,3	0,4	0,7	
1125	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	12,5	13,8	16,9	9,0	11,5	
	$s_{\bar{x}}$	3,3	1,8	1,7	0,7	2,0	
1250	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	13,2	14,1	15,0	9,7	13,1	
	$s_{\bar{x}}$	1,3	1,7	1,9	0,9	0,9	
Wirkungs- flächen		Ethan (nmol·mg/kg ² ·180 min)					
		$\bar{x}$	12406	14009	10196	6023	7303
		$s_{\bar{x}}$	447	702	366	448	680

Aus Tabelle 7 geht hervor, daß die Versuchsdurchführung in niedrigen O_2 -Konzentrationen (15 und 17,5 % O_2) eine dosisabhängige Steigerung der Ethanakkumulation bewirkten, während die hohen O_2 -Partialdrücke (22,5 und 100 % O_2) eine Senkung der Ethanakkumulation induzierten. Diese Zusammenhänge sind in Abbildung 11 dargestellt. (Signifikanz siehe Tabelle 13 und Abbildung 17)

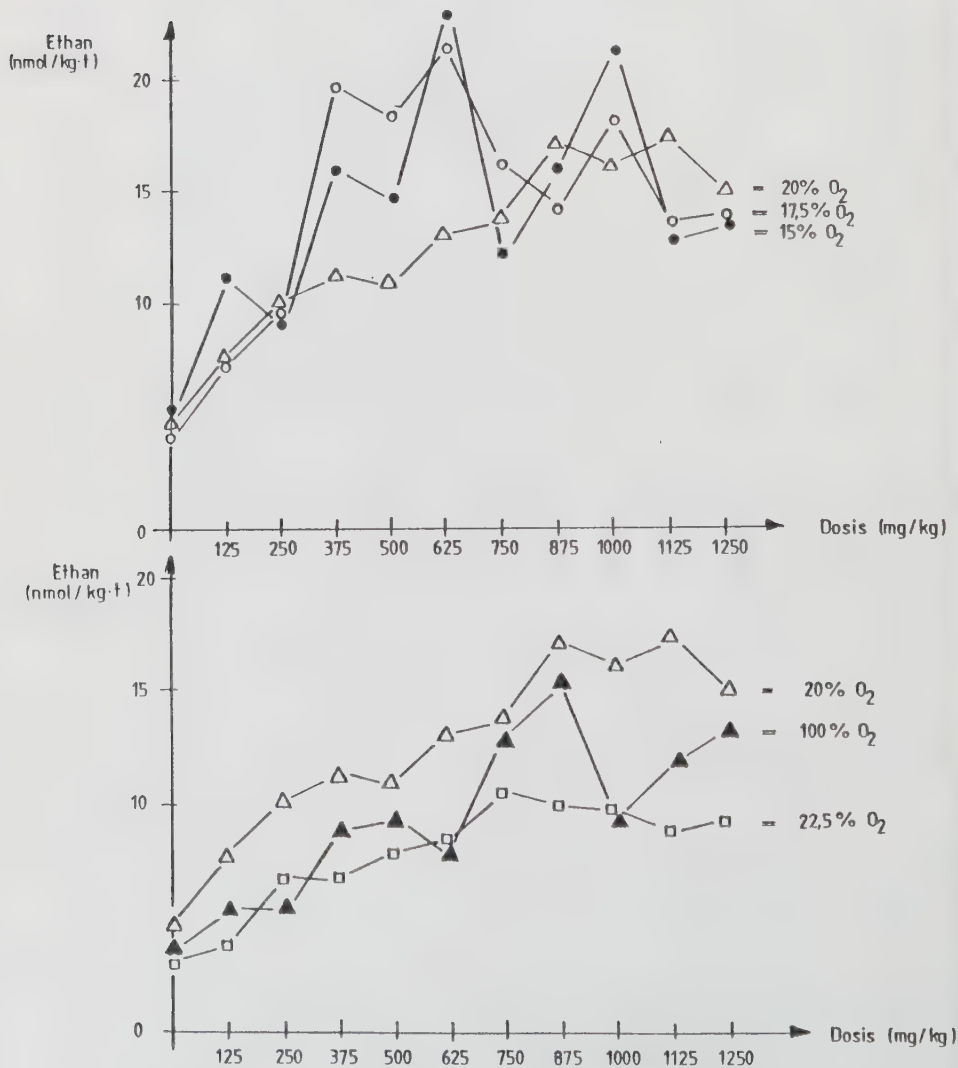


Abb. 11: Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach Verabreichung von Halothan bei Versuchen in Sauerstoffkonzentrationen von 15; 17,5;

5.3.2.2 Malondialdehydbildung in der Leber

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Abhängigkeit der halothanbedingten Malondialdehydbildung von der O_2 -Konzentration gehen aus Tabelle 8 und Abbildung 12 hervor.

Tab. 8: Malondialdehydbildung in der Leber (nmol/g · t) in Abhängigkeit von der Halothandosis bei Versuchsdurchführung in 15; 17,5; 20; 22,5 und 100 % Sauerstoffpartialdruck

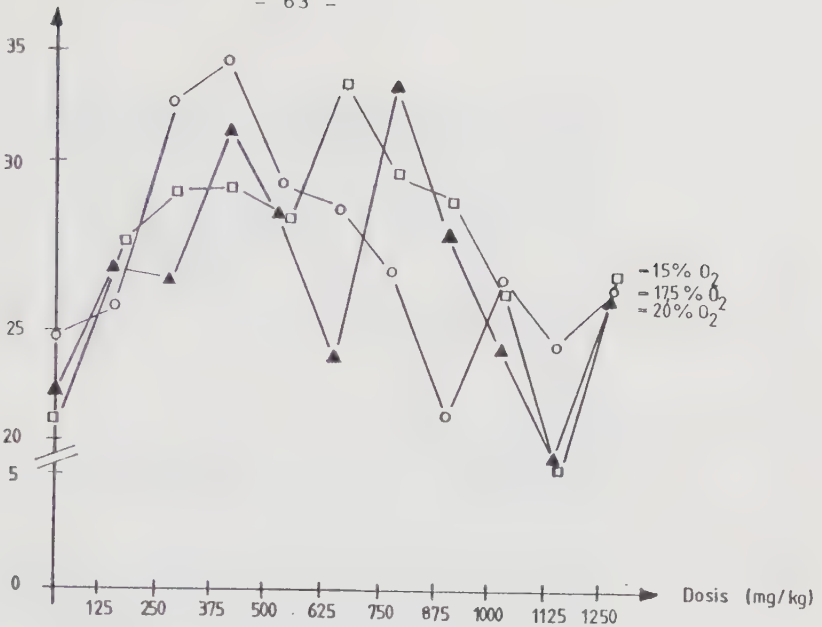
Halothandosis (mg/kg)		Sauerstoffpartialdruck (%)				
		15	17,5	20	22,5	100
0	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	21,0	25,0	22,2	25,1	27,1
	$s_{\bar{x}}$	2,6	0,9	0,7	0,5	0,9
125	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	28,8	26,6	28,0	30,0	28,1
	$s_{\bar{x}}$	1,3	1,5	1,2	0,8	0,9
250	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	31,6	35,4	27,3	34,5	26,6
	$s_{\bar{x}}$	1,2	3,2	0,9	0,6	0,6
375	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	31,7	37,5	34,2	34,0	32,1
	$s_{\bar{x}}$	2,7	2,0	1,4	1,2	0,6
500	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	30,0	32,1	30,3	34,4	28,3
	$s_{\bar{x}}$	2,5	1,7	2,8	1,2	0,5
625	n	4	4	4	4	4
	$\bar{x}$	36,7	31,0	23,9	29,0	37,5
	$s_{\bar{x}}$	3,6	3,6	1,8	0,3	2,6

Fortsetzung Tab. 8:

Halothandosis (mg/kg)		Sauerstoffpartialdruck (%)					
		15	17,5	20	22,5	100	
750	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	32,2	28,2	36,2	33,7	35,0	
	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,5	1,6	1,0	0,7	
875	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	31,0	21,8	29,6	30,1	38,6	
	$s_{\bar{x}}$	2,7	1,6	2,5	0,9	2,7	
1000	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	27,2	27,7	24,4	24,8	34,0	
	$s_{\bar{x}}$	2,5	2,0	0,5	1,1	1,9	
1125	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	19,2	25,0	19,3	19,4	27,4	
	$s_{\bar{x}}$	0,6	2,2	0,5	0,7	1,7	
1250	n	4	4	4	4	4	
	$\bar{x}$	28,0	27,5	27,0	21,0	23,9	
	$s_{\bar{x}}$	2,0	1,0	2,3	0,9	1,2	
Wirkungs- flächen		MDA (nmol·mg/g·kg·180 min)					
		$\bar{x}$	13225	5053	6675	4213	5203
		$s_{\bar{x}}$	737	1148	780	896	774

Bei einem Vergleich der Werte in Tabelle 8 ist eine ausgeprägte Steigerung der Malondialdehydbildung relativ zu den Normalwerten bei einem p_{O_2} von 20 % nur bei den Versuchen mit einer Sauerstoffatmosphäre von 15 % anhand der Wirkungsfläche nachzuweisen.

MDA
(nmol/g t
Leber)



MDA
(nmol/g t
Leber)

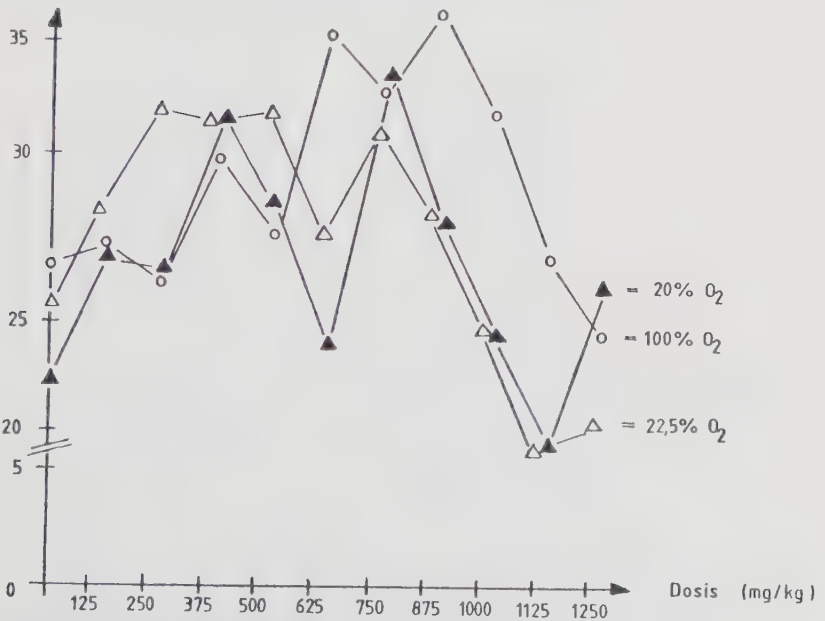


Abb. 12: Malondialdehydbildung (MDA) in der Leber (nmol/g t) bei Versuchsdurchführung in 15; 17,5; 20; 22,5; und 100 % O₂

5.3.3 Einfluß des Enzymhemmstoffes Metyrapon auf die halothanbedingte Lipidperoxidation

Um den Einfluß einer Hemmung der mikrosomalen Mono-oxygenasen auf die halothanabhängige Radikalbildung zu studieren, wurde den Versuchstieren 1 h vor der Halothanapplikation 100 mg Metyrapon/kg Körpermasse in Paraffin gelöst verabreicht.

5.3.3.1 Ethanexspiration .

Die Ergebnisse, die nach Enzymhemmung erhalten wurden, sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Tab. 9: Ethanakkumulation (nmol/kg · 180 min) nach intraperitonealer Applikation von Halothan ohne bzw. mit Metyraponvorbehandlung

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
0	n	4	4
	$\bar{x}$	4,3	4,5
	$s_{\bar{x}}^2$	0,3	0,2
125	n	4	4
	$\bar{x}$	7,6	5,1
	$s_{\bar{x}}^2$	0,7	0,7
250	n	4	4
	$\bar{x}$	9,9	4,1
	$s_{\bar{x}}^2$	0,8	1,5
375	n	4	4
	$\bar{x}$	11,3	5,7
	$s_{\bar{x}}^2$	0,8	0,4
500	n	4	4
	$\bar{x}$	10,8	6,6
	$s_{\bar{x}}^2$	1,0	0,4

Fortsetzung von Tab. 9:

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung		
		ohne	mit	
625	n	4	4	
	$\bar{x}$	13,0	10,8	
	$s_{\bar{x}}$	0,6	0,2	
750	n	4	4	
	$\bar{x}$	13,8	6,5	
	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,7	
875	n	4	4	
	$\bar{x}$	17,1	10,6	
	$s_{\bar{x}}$	1,6	0,4	
1000	n	4	4	
	$\bar{x}$	16,2	9,1	
	$s_{\bar{x}}$	1,3	0,9	
1125	n	4	4	
	$\bar{x}$	16,9	9,9	
	$s_{\bar{x}}$	1,7	0,5	
1250	n	4	4	
	$\bar{x}$	15,0	8,5	
	$s_{\bar{x}}$	1,9	0,9	
Wirkungs- flächen		Ethan (nmol·mg/kg ² ·180 min)		
		$\bar{x}$	10196	3594
		$s_{\bar{x}}$	366	112

Tabelle 9 macht deutlich, daß die Vorbehandlung mit Metyrapon eine Senkung der Ethanakkumulation bewirkt. Die Wirkungsfläche wird durch Vorbehandlung stark vermindert ($p < 0,01$). Dies geht auch aus Abbildung 13 hervor.

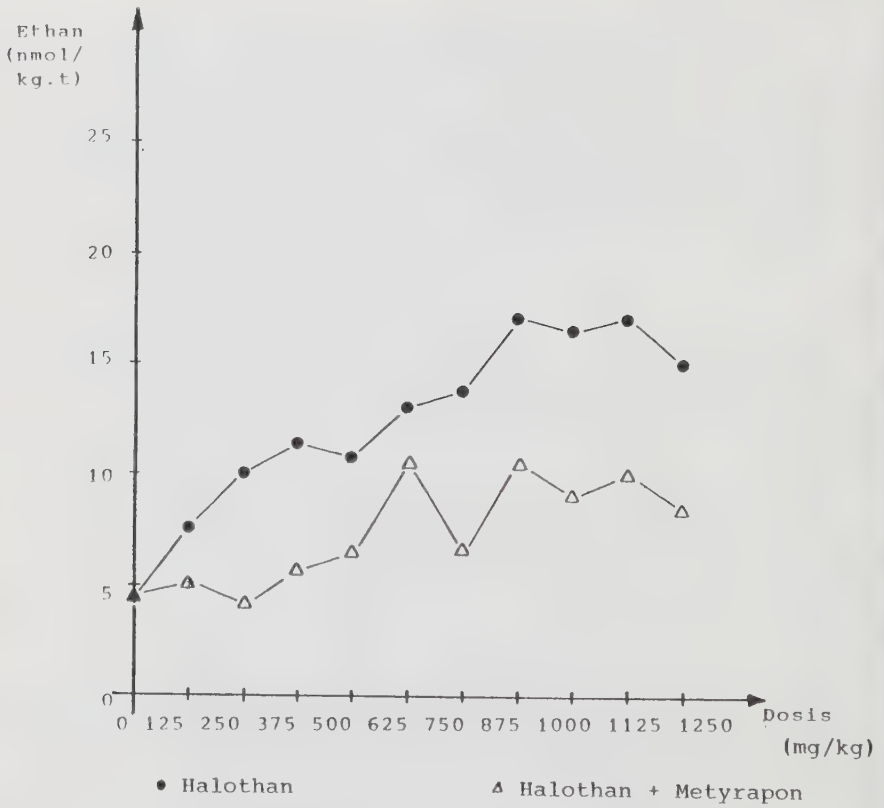


Abb. 13: Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach Halothanapplikation ohne und mit Metyraponvorbehandlung

5.3.3.2 Malondialdehydbildung in der Leber

Die bei Versuchsende der Metyraponversuche bestimmte halothanabhängige Malondialdehydbildung in der Leber ist in Tabelle 10 den Vergleichswerten ohne Enzymhemmung gegenüber gestellt.

Tabelle 10: Malondialdehydbildung in der Leber
(nmol/g·t) bei halothanbelasteten
Tieren ohne bzw. mit Metyraponvorbehandlung

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
0	n	4	4
	$\bar{x}$	22,2	25,9
	$s_{\bar{x}}^2$	0,7	0,2
125	n	4	4
	$\bar{x}$	28,0	27,1
	$s_{\bar{x}}^2$	1,2	1,4
250	n	4	4
	$\bar{x}$	27,3	28,9
	$s_{\bar{x}}^2$	0,9	1,1
375	n	4	4
	$\bar{x}$	34,2	29,3
	$s_{\bar{x}}^2$	1,4	0,9
500	n	4	4
	$\bar{x}$	30,3	23,2
	$s_{\bar{x}}^2$	2,8	1,9
625	n	4	4
	$\bar{x}$	23,9	19,5
	$s_{\bar{x}}^2$	1,8	2,0
750	n	4	4
	$\bar{x}$	36,2	21,6
	$s_{\bar{x}}^2$	1,6	0,9

Fortsetzung Tab. 10:

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
875	n	4	4
	$\bar{x}$	29,6	23,9
	$s_{\bar{x}}$	2,5	0,9
1000	n	4	4
	$\bar{x}$	24,4	26,2
	$s_{\bar{x}}$	0,5	0,7
1125	n	4	4
	$\bar{x}$	19,3	23,9
	$s_{\bar{x}}$	0,5	1,2
1250	n	4	4
	$\bar{x}$	27,0	25,0
	$s_{\bar{x}}$	2,3	1,7
Wirkungs- flächen		MDA (nmol·mg/g·kg·180 min)	
	$\bar{x}$	6675	-1319
	$s_{\bar{x}}$	780	252

Die Auswertung der Wirkungsflächen ergibt auch hier eine deutliche Abschwächung der Halothanwirkung durch die Vorbehandlung mit Metyrapon ($p < 0,01$). Dies geht auch aus Abbildung 14 hervor.

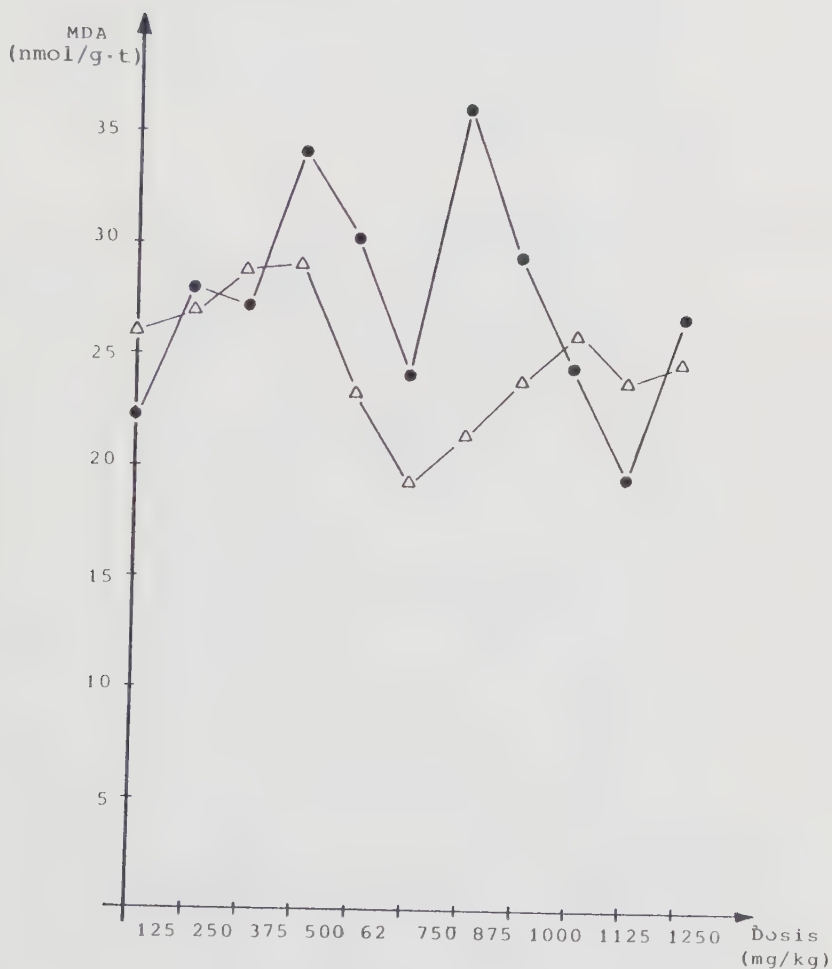


Abb. 14: Malondialdehydbildung (MDA) in der Leber (nmol/g.t) nach Halothanverabreichung ohne (●) und mit (Δ) Vorbehandlung durch Metirapon

5.3.4 Einfluß des Radikalfängers (+)-Cyanidanol-3 auf die halothanbedingte Lipidperoxidation

Um den Einfluß eines Radikalfängers auf die radikal-induzierenden Eigenschaften von Halothan zu studieren, wurde (+)-Cyanidanol-3 in Paraffin aufgelöst und 12 h vor der Halothanapplikation in einer Dosis von 200 mg/ verabreicht.

5.3.4.1 Ethanexspiration

Ein Vergleich der Ethanexspiration von halothanbelasteten Versuchstieren ohne und mit (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung findet sich in Tabelle 11.

Tab. 11: Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach intraperitonealer Applikation von Halothan ohne bzw. mit (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
	n	4	4
	$\bar{x}$	4,3	5,7
	$s_{\bar{x}}$	0,3	0,7
125	n	4	4
	$\bar{x}$	7,6	5,7
	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,4
250	n	4	4
	$\bar{x}$	9,9	4,4
	$s_{\bar{x}}$	0,8	0,7
375	n	4	4
	$\bar{x}$	11,3	7,4
	$s_{\bar{x}}$	0,8	1,0
500	n	4	4
	$\bar{x}$	10,8	9,8
	$s_{\bar{x}}$	1,0	1,0

Fortsetzung Tab. 11:

Haloethandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
625	n	4	4
	$\bar{x}$	13,0	9,0
	$s_{\bar{x}}$	0,6	1,1
750	n	4	4
	$\bar{x}$	13,8	8,4
	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,7
875	n	4	4
	$\bar{x}$	17,1	8,8
	$s_{\bar{x}}$	1,6	0,8
1000	n	4	4
	$\bar{x}$	16,2	9,2
	$s_{\bar{x}}$	1,3	0,8
1125	n	4	4
	$\bar{x}$	16,9	10,0
	$s_{\bar{x}}$	1,7	0,9
1250	n	4	4
	$\bar{x}$	15,0	9,8
	$s_{\bar{x}}$	1,9	1,2
Wirkungs- flächen	Ethan (nmol·mg/kg ² ·180 min)		
	$\bar{x}$	10196	2479
	$s_{\bar{x}}$	366	464

Aus der vorstehenden Tabelle ist eine Hemmung der Ethanakkumulation durch (+)-Cyanidanol-3 erkennbar, die in Abbildung 15 veranschaulicht ist.

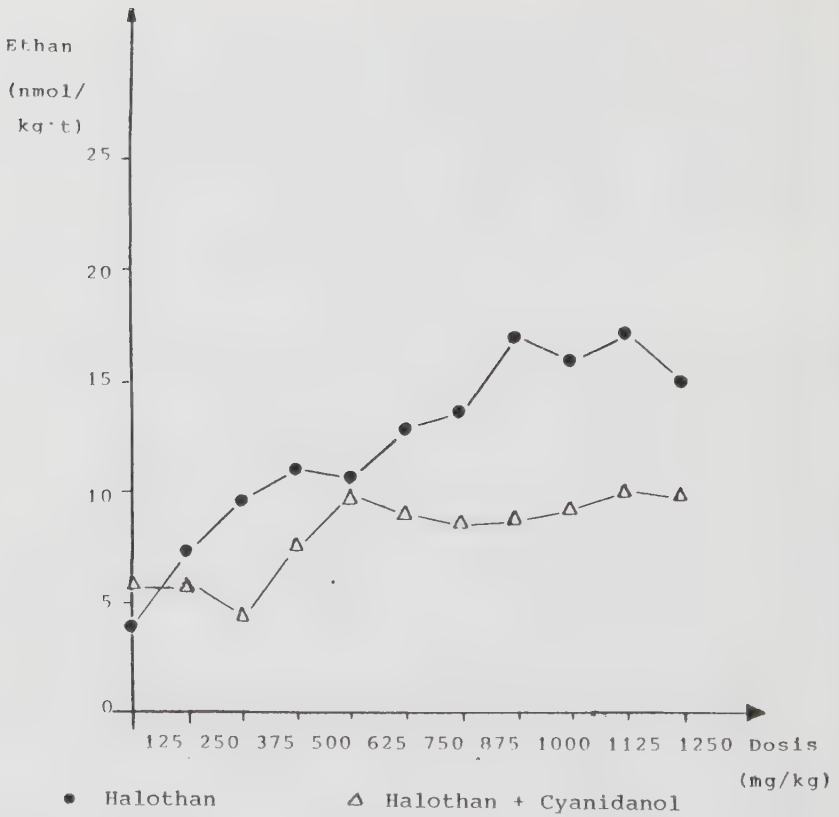


Abb. 15: Ethanakkumulation (nmol/kg·180 min) nach Halothanapplikation ohne (●) bzw. mit (Δ) (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung

5.3.4.2 Malondialdehydbildung in der Leber

In Tabelle 12 findet sich der Vergleich der nach Versuchsende gewonnenen Werte der halothanabhängigen Malondialdehydbildung mit den Werten (+)-Cyanidanol-3-vorbehandelter Tiere.

Tab. 12: Malondialdehydbildung in der Leber (nmol/g·t) bei halothanbelasteten Tieren ohne bzw. mit (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
Ø	n	4	4
	$\bar{x}$	22,2	20,5
	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,6
125	n	4	4
	$\bar{x}$	28,0	25,4
	$s_{\bar{x}}$	1,2	1,0
250	n	4	4
	$\bar{x}$	27,3	20,3
	$s_{\bar{x}}$	0,9	1,7
375	n	4	4
	$\bar{x}$	34,2	25,0
	$s_{\bar{x}}$	1,4	0,8
500	n	4	4
	$\bar{x}$	30,3	20,6
	$s_{\bar{x}}$	2,8	0,9
625	n	4	4
	$\bar{x}$	23,9	17,9
	$s_{\bar{x}}$	1,8	1,3
750	n	4	4
	$\bar{x}$	36,2	15,2
	$s_{\bar{x}}$	1,6	1,8

Fortsetzung Tab. 12:

Halothandosis (mg/kg)		Vorbehandlung	
		ohne	mit
875	n	4	4
	$\bar{x}$	29,6	16,3
	$s_{\bar{x}}$	2,5	0,4
1000	n	4	4
	$\bar{x}$	24,4	23,5
	$s_{\bar{x}}$	0,5	1,2
1125	n	4	4
	$\bar{x}$	19,3	21,6
	$s_{\bar{x}}$	0,5	1,3
1250	n	4	4
	$\bar{x}$	27,0	17,8
	$s_{\bar{x}}$	2,3	0,9
Wirkungs- flächen		MDA (nmol·mg/g·kg·180 min)	
	$\bar{x}$	6675	1218
	$s_{\bar{x}}$	780	808

Ein Vergleich der Wirkungsflächen zeigt auch hier eine deutliche Hemmung der Halothanwirkung durch den Radikalfänger (+)-Cyanidanol-3. Dies geht auch aus Abbildung 16 hervor.

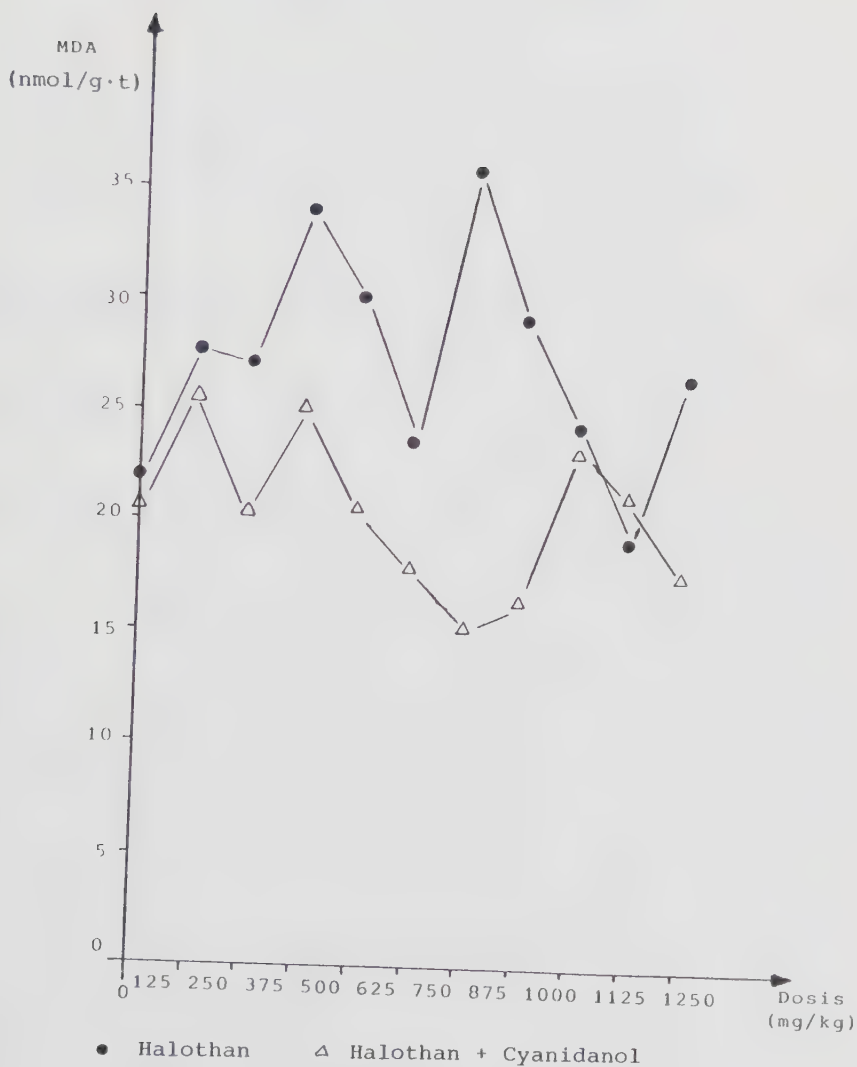


Abb. 16: Malondialdehydbildung (MDA) in der Leber (nmol/g · t) nach Halothan-Verabreichung ohne (●) und mit (Δ) (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung

5.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

5.4.1 Ethanexspiration

Die Untersuchungsergebnisse der Ethanexspiration sind in Tabelle 13 als Wirkungsflächen dargestellt und mit der Exspiration weiblicher Mäuse bei Versuchen in synthetischer Luft (20 % O₂) als Kontrollgruppe verglichen worden.

Tab. 13: Wirkungsflächen der Ethanakkumulation im Vergleich

Behandlung	Ethan '(nmol·mc/kg ² ·180 min)
Hal ♀	n 4 $\bar{x}$ 10196 $s_{\bar{x}}$ 366
Hal ♂	n 4 $\bar{x}$ 8898 $s_{\bar{x}}$ 473
Hal in 15 % O ₂	n 4 $\bar{x}$ 12406* $s_{\bar{x}}$ 447
Hal in 17,5 % O ₂	n 4 $\bar{x}$ 14009** $s_{\bar{x}}$ 702
Hal in 22,5 % O ₂	n 4 $\bar{x}$ 6023** $s_{\bar{x}}$ 448
Hal in 100 % O ₂	n 4 $\bar{x}$ 7303** $s_{\bar{x}}$ 680

Fortsetzung von Tab. 13:

Behandlung	Ethan (nmol·mg/kg ² , 180 min)	
Hal + MET	n	4
	$\bar{x}$	3594**
	$s_{\bar{x}}$	112
Hal + Cya	n	4
	$\bar{x}$	2479**
	$s_{\bar{x}}$	464

Hal = Halothan; MET = Metyrapon; Cya = (+)-Cyanidanol-3

Aus Tabelle 13 geht hervor, daß sich die Wirkungsflächen der Ethanakkumulation bei männlichen und weiblichen Mäusen nicht signifikant unterscheiden. Beim Vergleich der Wirkungsflächen aus Versuchen mit verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen und mit Metyrapon- bzw. (+)-Cyanidanol-3-Vorbehandlung sind durchweg signifikante Unterschiede festzustellen. Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse findet sich in Abbildung 17.

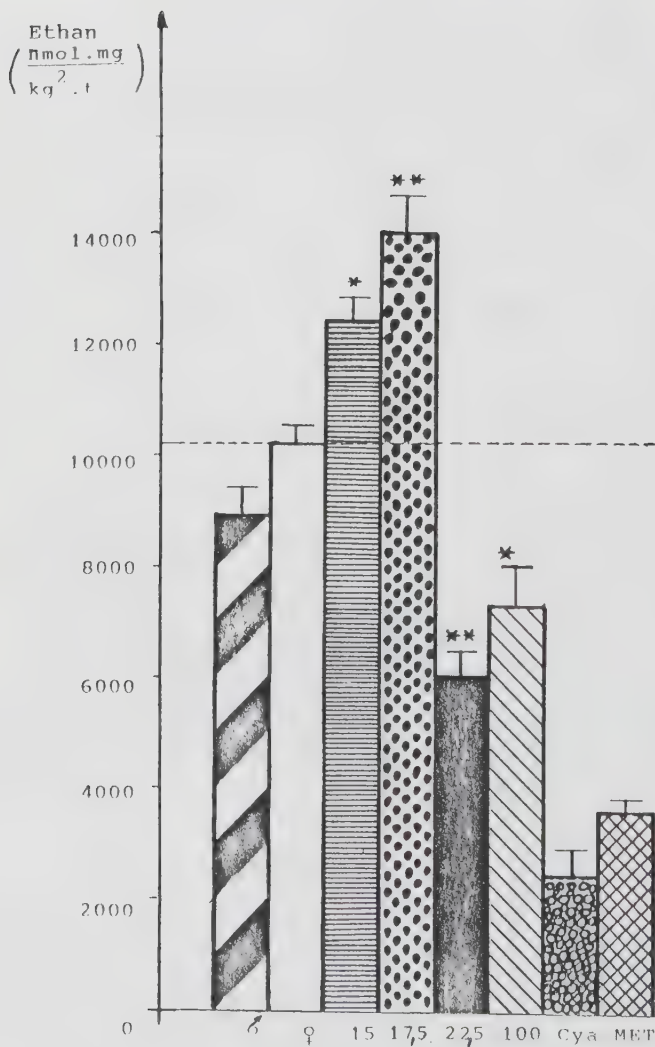


Abb. 17:

Wirkungsflächen der Ethanakkumulation nach Halothanapplikation bei Versuchen mit ♂ und ♀ Mäusen in synthetischer Luft sowie in 15; 17,5; 22,5 und 100 % O₂ und nach Vorbehandlung mit Metyrapon

5.4.2 Malondialdehydbildung in der Leber

Die Wirkungsflächen der Malondialdehydbildung aus den vorangegangenen Versuchen sind in Tabelle 14 im Vergleich dargestellt. Als Kontrollgruppe diente dabei wiederum die Malondialdehydbildung weiblicher Mäuse bei Versuchsdurchführung in synthetischer Luft (20 % O₂)

Tab. 14: Wirkungsflächen der Malondialdehydbildung im Vergleich

Behandlung	Malondialdehyd (nmol·mg/g·kg·180 min)
Hal ♀	n 4
	$\bar{x}$ 6675
	$s_{\bar{x}}$ 780
Hal ♂	n 4
	$\bar{x}$ 8423
	$s_{\bar{x}}$ 680
Hal in 15 % O ₂	n 4
	$\bar{x}$ 13225**
	$s_{\bar{x}}$ 737
Hal in 17,5 % O ₂	n 4
	$\bar{x}$ 5053
	$s_{\bar{x}}$ 1148
Hal in 22,5 % O ₂	n 4
	$\bar{x}$ 4213*
	$s_{\bar{x}}$ 896
Hal in 100 % O ₂	n 4
	$\bar{x}$ 5203
	$s_{\bar{x}}$ 774
Hal + MET	n 4
	$\bar{x}$ -1319**
	$s_{\bar{x}}$ 252
Hal + Cya	n 4
	$\bar{x}$ 1218**
	$s_{\bar{x}}$ 808

Aus der vorstehenden Tabelle läßt sich entnehmen, daß geschlechtsspezifische Unterschiede offenbar für die Malondialdehydbildung in der Leber keine Rolle spielen. Desgleichen zeigten sich bei den Versuchen mit den Sauerstoffkonzentrationen 17,5 und 100 % keine signifikanten Unterschiede. Die übrigen Sauerstoffkonzentrationen (15 und 22,5 %) und die Vorbehandlungen mit Metyrapon und (+)-Cyanidanol-3 unterscheiden sich signifikant von der Kontrollgruppe.

Eine graphische Darstellung der Malondialdehyd-Wirkungsflächen zeigen die Säulendiagramme in Abbildung 18.

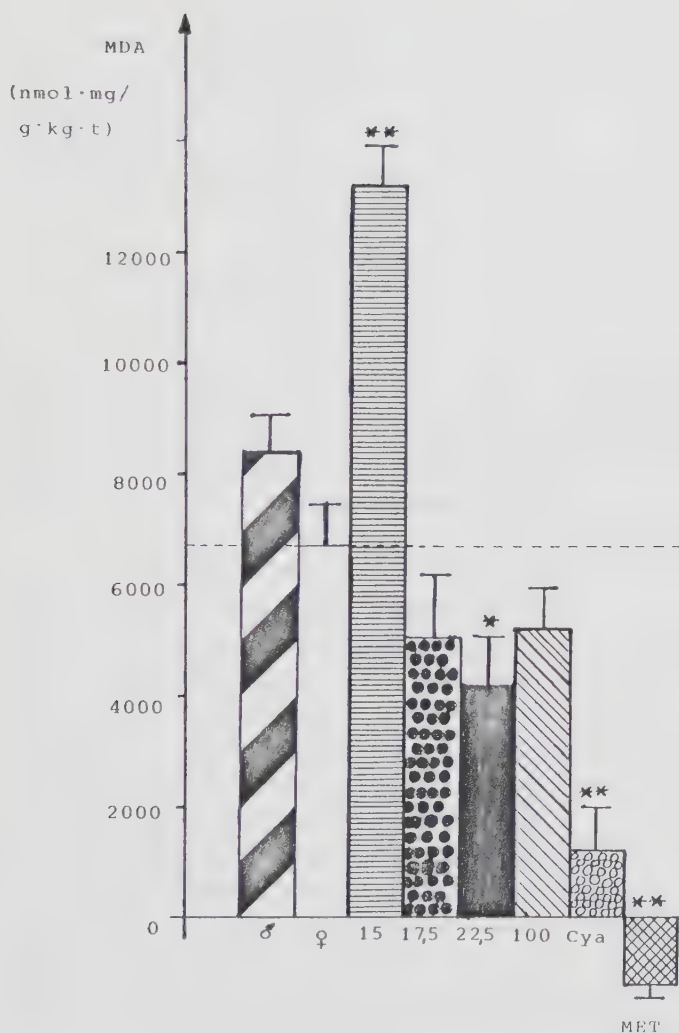


Abb. 18: Wirkungsflächen der Malondialdehydbildung (MDA (nmol·mg/g·kg·180 min) bei ♂ und ♀ Mäusen bei Versuchsdurchführung in synthetischer Luft sowie in 15; 17,5; 22,5 und 100 % O₂ und nach Vorbehandlung mit Metyrapon bzw. (+)-Cyanidanol-3

IV

DISKUSSION

In Fortführung früherer Untersuchungen am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät München (Gienger 1982; Beuter und Schmid 1983), ist mit der vorliegenden Arbeit versucht worden, die metabolische Giftung von Halothan zu Radikalen und Radikalfolgeprodukten

- a) weiter zu konkretisieren und
- b) im Sinne einer Hemmung zu beeinflussen.

Methodik

Versuchstiere. Die Untersuchungen sind mit Mäusen durchgeführt worden, die wegen ihrer hohen Stoffwechselaktivität besonders geeignet, d. h. empfindlich sind für den Nachweis radikalischer Halothan-metaboliten.

Infolge fehlender Kenntnisse über potentielle geschlechtsspezifische Unterschiede der Halothanmetabolisierung, ist zunächst untersucht worden, ob zwischen männlichen und weiblichen Mäusen erkennbare Unterschiede der Ethanexspiration und der Malondialdehydbildung in der Leber nach einer Halothanbelastung bestehen (Tab. 5 und 6). Es scheint, daß dies nicht der Fall ist. Die gefundenen quantitativen Unterschiede haben sich jedenfalls statistisch nicht objektivieren lassen. Allerdings fällt auf, daß einer höheren Ethanexspiration der weiblichen Tiere eine geringere Malondialdehydbildung in der Leber gegenübersteht, während dies bei den männlichen Tieren umgekehrt ist (s. Tab. 5 und 6).

Ethanexspiration. Die Exspiration von Ethan gilt inzwischen als vielfach gesicherter Indikator einer Lipidperoxidation (s. 1.4.1.1) von zellulären und subzellulären Membranen durch Radikale und ihre Folgeprodukte (Abramson 1949; Beuter und Schmid 1982; Cohen 1979; Cohen et al. 1968; Riely et al. 1974; Schmid und Beuter 1982; Schmid und Christoph 1980).

Ethan entsteht, wie oben dargelegt wurde (s. 1.2.2), als Bruchstück von oxidativ geschädigten polyungesättigten Membranlipiden. Seine Bildung erfolgt im gesamten Verteilungsvolumen des Halothans, da die metabolisierenden Monooxygenasen in nahezu allen Organen und Körpergeweben - wenn auch mit unterschiedlicher Aktivität - nachweisbar sind (Gram 1980).

Malondialdehydbildung. Als zweiter Indikator einer radikalinduzierten Lipidperoxidation (Bernheim et al. 1948; Dahle et al. 1962; Plaa und Witschi 1976; Terao und Matsushita 1981) ist Malondialdehyd erfaßt worden. Er entsteht gleichfalls im Verteilungsvolumen des Halothans im Organismus, wurde bei den durchgeführten Untersuchungen jedoch nur in der Leber bestimmt.

Die Malondialdehydbestimmung hat den Nachteil, daß sie - im Gegensatz zur Ethanbestimmung - nicht in vivo, sondern nur post mortem vorgenommen werden kann.

Auswertung. Die durchgeführte Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Halothandosis und Ethan- bzw. Malondialdehydbildung hat mehrgipfelige unorthodoxe Dosis-Wirkungsfunktionen bzw. -kurven ergeben (s. u. a. Abbildung 9 und 10). Das ist auch bei anderen Halogen-Kohlenwasserstoffen (Schmid und Beuter 1982) und von anderen Untersuchern (Gienger 1982; Beuter und Schmid 1983) beobachtet worden.

Man kann sich diesen Dosis-Wirkungszusammenhang auf folgende Weise erklären (Schmid 1982a): Nach der Verabreichung von Halothan liegt dieses in einem Verteilungsvolumen im Organismus vor, das aus verschiedenen Verteilungsräumen mit unterschiedlicher Halothankonzentration (Beispiel: Fettgewebe und Muskulatur) und Monooxygenasenaktivität (Beispiel: Zentri-lobulärer und periportal Bereich der Leberläppchen;

Sweeney 1981) besteht. In den einzelnen Verteilungsräumen werden Ethan und Malondialdehyd in einer Menge produziert, die der jeweiligen Halothankonzentration, der Aktivität der gen. metabolisierenden Enzyme und dem Volumen der Verteilungsräume proportional ist. Darüber hinaus wird die Radikalbildung aus Halothan, d. h. die Produktion von Ethan und Malondialdehyd von einer mit steigender Halothankonzentration zunehmenden radikalischen Schädigung der metabolisierenden Enzyme modifiziert und kommt bei hoher Konzentration ggf. ganz zum Erliegen, wie dies u. a. von Tetrachlorkohlenstoff bekannt ist (Recknagel und Glende 1973). Das hat zur Folge, daß

- im Bereich niedriger Halothandosen in allen Verteilungsräumen eine positive Korrelation zwischen Dosis und Ethan- bzw. Malondialdehydbildung besteht, während
- mit zunehmender Steigerung der Halothandosis - z u n ä c h s t in den Verteilungsräumen mit hoher Halothankonzentration und hoher Monooxygenasenaktivität, mit steigender Dosis auch in den übrigen Verteilungsräumen - eine merkbare Inaktivierung der metabolisierenden Enzyme mit Abnahme der Ethan- und Malondialdehydproduktion eintritt.

In die analytisch erfaßte, d. h. im Verteilungsvolumen des Halothans insgesamt gebildete Ethan- und Malondialdehydmenge, geht dieser Sachverhalt als dosisabhängige Zu- und Abnahme ein, die sich graphisch als mehrgipfelige Dosis-Wirkungskurve darstellt.

Derartige Dosis-Wirkungskurven können nicht unmittelbar verglichen werden. Deshalb sind die Netto f l ä c h e unter den Dosis-Wirkungskurven, wie von Schmid und Beuter (1982), zum Vergleich herangezogen worden. Sie haben die Dimension Dosis mal Wirkung.

Ergebnisse

Radikalbildung. Den Ergebnissen läßt sich zunächst entnehmen, daß auch unvorbehandelte Kontrolltiere eine gewisse Spontanexspiration von Ethan (vgl. Abbildung 4 und 7) und eine Spontanbildung von Malondialdehyd (s. Tabelle 6 und Abbildung 10) aufweisen. Dieses Phänomen ist mehrfach beschrieben worden (Dillard et al. 1977; Schmid 1979; Schmid und Jungbauer 1980) und kann mit einer geringen, jedoch permanenten spontanen Lipidperoxidation in vivo erklärt werden (Schmid 1982b).

Darüber hinaus bestätigten die Ergebnisse die auch von anderen Untersuchern (Gienger 1982; Beuter und Schmid 1983) beschriebene endogene Umwandlung von Halothan zu Radikalen (S. Tabelle 5 und 6 sowie Abbildung 9 und 10).

Sauerstoffabhängigkeit. Die metabolische Radikalbildung von Halothan ist, wie aus Abbildung 17 und 18 hervorgeht, bei erniedrigtem Sauerstoffpartialdruck in der Atemluft (Weniger als 20 Vol%) deutlich gesteigert und bei erhöhtem Sauerstoffanteil (mehr als 20 Vol%) erniedrigt. Dies legt nahe, daß die im Literaturteil dargelegten *reduktiven* Metabolisierungsreaktionen (s. 2.3.2) offenbar von größerer Bedeutung für die Radikalbildung aus Halothan sind als dessen oxidative Umwandlungen (s. 2.3.1).

Im Hinblick auf die Durchführung von Halothannarkosen ergibt sich daraus die Konsequenz, daß der Sicherstellung einer optimalen Sauerstoffversorgung des Patienten zur Vermeidung der u. a. von Chang und Katz (1976) detailliert beschriebenen halothanbedingten Membranschädigungen in Gehirn, Leber und Nieren (sowie anderen Organen und Geweben im Verteilungsvolumen des Halothans) eine besondere Bedeutung zukommt.

Enzymhemmung. Aus den Abbildungen 17 und 18 läßt sich gleichfalls entnehmen, daß eine Hemmung der mischfunktionellen Monooxygenasen mit Metyrapon die Radikalbildung aus Halothan drastisch senkt. Ein qualitativ vergleichbarer Effekt ist mit Piperonylbutoxid, einem anderen Hemmstoff der mischfunktionellen Monooxygenasen, erzielt worden (Beuter und Schmid 1983); Metyrapon scheint jedoch wirksamer zu sein. Die Hemmbarkeit der Radikalbildung mit Metyrapon eröffnet die Möglichkeit, die parenchym-schädigenden Nebenwirkungen des Halothans bei einer Allgemeinanästhesie durch vorherige Behandlung der Patienten mit Enzymhemmstoffen zu mindern oder zu vermeiden.

Eine andere Konsequenz des enzymatischen Mechanismus' der Radikalbildung ist, daß Patienten mit einer im Einzelfall meist nicht bekannten - mäßigen Induktion der mischfunktionellen Monooxygenasen, z. B. infolge Hungerns (Greim 1975) oder einer vorangegangenen Aufnahme von Enzyminduktoren wie barbiturathaltigen Hypnotica oder Sedativa etc., bei einer Halothannarkose potentiell besonders gefährdet sind. Entsprechendes gilt für die Wiederholung von Halothannarkosen.

Radikalinaktivierung. Anders als durch eine Beeinflussung der Halothangiftung mit Hemmstoffen der mischfunktionellen Monooxygenasen, lassen sich die oxidativen Nebenwirkungen des Halothans durch Inaktivierung der metabolisch gebildeten Radikale und/oder Radikalfolgeprodukte verhüten. Dies zeigen die u. a. in Abbildung 17 und 18 dargestellten Versuchsergebnisse mit (+)-Cyanidanol-3. Sie belegen - was nicht ohne weiteres von jedem Radikalhemmstoff angenommen werden kann - daß Cyanidanol geeignet ist, die Halothanradikale und ggf. ihre oxidierenden Folgeprodukte zu inaktivieren.

Der prophylaktische Einsatz von Cyanidanol scheint demnach eine weitere Möglichkeit zur Verhütung der parenchymtoxischen Nebenwirkungen des Halothans zu sein.

Schlußfolgerungen

Aus den beschriebenen Untersuchungsergebnissen lassen sich einige Empfehlungen zur möglichen Vermeidung der wichtigsten Nebenwirkungen des Halothans ableiten:

- a) Vor einer Anwendung von Halothan sollte eine Induktion der mischfunktionellen Monooxygenasen - auch durch vorangegangene Halothannarkosen -, und eine Unterversorgung mit Vitamin E sowie Selen ausgeschlossen werden.
- b) Bei Halothannarkosen sollte eine hinreichende Sauerstoffversorgung des Patienten sichergestellt sein; es gibt keine pharmakologisch-toxikologischen Gründe gegen eine reine Sauerstoffbeatmung.
- c) Die parenchymsschädlichen Nebenwirkungen des Halothans lassen sich potentiell durch eine Vorbehandlung der Patienten mit Enzymhemmstoffen wie Metyrapon und/oder Radikalhemmstoffen wie (+)-Cyanidanol-3 abschwächen bzw. verhüten.

Diese Empfehlungen bedürfen einer klinischen Überprüfung bei einer Übertragung auf andere Tierarten als Mäuse.

ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist eine experimentelle Untersuchung der Sauerstoffabhängigkeit und der Beeinflussbarkeit der metabolischen Giftung von Halothan zu Radikalen und oxidierenden Radikalfolgeprodukten.

Die Untersuchungen sind mit konventionell gehaltenen und ernährten weiblichen, z. Tl. auch männlichen Mäusen durchgeführt worden.

Als Indikatoren der Radikalwirkungen sind die Ethanexpiration der Versuchstieren gaschromatographisch und die Malondialdehydbildung in der Leber spektrophotometrisch bestimmt worden.

Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

- a) Die metabolische Radikalbildung aus Halothan ist bei männlichen und weiblichen Versuchstieren quantitativ vergleichbar. Sie ist dem Sauerstoffpartialdruck in der Atemluft der Versuchstiere umgekehrt proportional.
- b) Die Radikalbildung läßt sich durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit Metyrapon, einem Hemmstoff der mischfunktionellen Monooxygenasen, hemmen.
- c) Die Radikalwirkung läßt sich durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit dem Radikalhemmstoff (+)-Cyanidanol-3 abschwächen.
- d) Geeignete Maßnahmen zur Minderung oder Verhütung der parenchymtoxischen Nebenwirkungen des Halothans sind die Vermeidung eines Selen- oder Vitamin-E-Mangelzustandes, einer Induktion der mischfunktionellen Monooxygenasen und einer Hypoxie sowie eine Vorbehandlung mit Metyrapon oder (+)-Cyanidanol-3.

MODIFICATION OF THE PROOXIDATIVE SIDE-EFFECTS
OF HALOTHANE

SUMMARY

The object of the present study is an experimental investigation of the oxygen dependence of the metabolic activation of halothane to radicals and consequential radical products as well as possibilities to influence that process.

The experiments were carried out using mice, mostly of female sex, which were conventionally kept and nourished.

Ethane expiration was measured gaschromatographically and malonic dialdehyde formation in liver was measured spectrophotometrically as indicators of radical reactions.

The results may be summarized as follows:

- a) Metabolic radical formation by halothane is comparable quantitatively in male and female mice. It is inversely proportional to the partial pressure of oxygen in the inhaled air.
- b) Radical formation can be inhibited by pretreatment of test animals using metyrapone, an inhibitor of mixed-function monooxygenases.
- c) The radical reaction can be diminished by pretreatment of test animals using the radical scavenger (+)-cyanidanole-3.
- d) Suitable measures to diminish or suppress the parenchyme damaging side-effects of halothane are the prevention of selenium and vitamin E deficiencies, of induction of mixed-function monooxygenases, and of hypoxia, and the pretreatment using metyrapone or (+)-cyanidanole-3.

VI LITERATURVERZEICHNIS

Abramson H

The oxidation of unsaturated fatty acid in normal and scorbutic guinea pigs

J. Biol. Chem. 178, 179 - 183, 1949

Ahr HJ, King LJ, Nastainczyk W, Ullrich V

The mechanism of reductive dehalogenation of halothane by liver cytochrome P-450

Biochem. Pharmacol. 31, 383 - 390, 1982

Anonym

Catergen^R, Pharmakologie, Klinik

Produktionformation der Zyma GmbH München, 1979

Baden JM, Mazze RJ, Wharton RS, Rice SA, Kosek JC

Carcinogenicity of halothane in Swiss/ICR Mice

Anesthesiology 51, 20 - 31, 1979

Barber AA, Bernheim F

Lipid peroxidation: its measurement, occurrence and significance in animal tissues

Advan. Gerontol. Res. 2, 355 - 403, 1967

Baur KF

Immunsuppression durch Halothan, Ketamin und Bupivacain

ZAK Innsbruck, Vortrag, 1979

Beauchamp Ch, Fridovich I

A mechanism for the production of ethylene from methional

J. Biol. Chem. 24, 4641 - 4646, 1970

Bernheim F, Bernheim MLC, Wilbur KM

The reaction between thiobarbituric acid and the oxidation products of certain lipids

J. Biol. Chem. 174, 257 - 264, 1948

Bertelli A

Pharmacological Aspects of (+)-Cyanidanol-3

In: New Trends in the Therapy of Liver Diseases

Int. Symposium, Tirrenia, 92 - 99, 1974

Basel: Verlag S.Karger, 1975

Beuter W

Untersuchung von Mangan(II)-, Nickel(II)-, Zinn(II)- und Blei(II)-Ionen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo

München: Med. vet. Diss., 1981

Beuter W

Persönliche Mitteilung

München, 1983

Beuter W, Schmid A

Metabolische Radikalbildung aus Halothan und Enfluran und ihre Beeinflussung durch Enzyminduktion und -hemmung

BMTW 96, 171 - 173, 1983

Borg DC

Electron spin resonance applied to free radicals of physiological, pharmacological of biochemical interest

In: Swartz HM, Bolton JF, Borg DC (eds)

Biological Applications of Electron Spin Resonance

New York, London, Sydney, Toronto: Wiley-Interscience, 1972

Büch HP, Büch U

Narkotika, Narkose

In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Hrsg

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
3te Auflage

Mannheim: BI-Wissenschaftsverlag, 1980

Bunyan J, Murell EA, Green J, Diplock AT

On the existence and significance of lipid peroxides in
vitamin-E-deficient animals

Br. J. Nutr. 21, 475 - 495, 1967

Chang LW

Pathologic changes following chronic exposure to halothane
(a review)

Environ. Health Perspect. 21, 195 - 210, 1977

Chang LW, Dudley AW, Lee YK

Ultrastructural studies of the pathological changes
in the neonatal kidney following in utero exposure
to halothane

Environ. Res. 10, 174 - 189, 1975

Chang LW, Katz J

Pathologic effects of chronic halothane inhalation:
An overview

Anesthesiology 45, 640 - 653, 1976

Cohen G

Lipid peroxidation: Detection in vivo and in vitro
through the formation of hydrocarbon gases

In: Oxygen free radicals and tissue damage

CIBA Foundation Symp. 65 (new series)

Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica, 1979

Cohen G, Riely C, Liebermann M

Ethane formation from lipid peroxides in mammalian cells
Fed. Proc. 27, abstract 2436, 648, 1968

Cohen EN, Trudell JR, Edmunds HN, Watson E

Urinary metabolites of halothane in man

Anesthesiology 41, 392 - 401, 1975

Cousins MJ, Sharp JH, Gourlay GK, Adams JF, Haynes WD
Whitehead R

Hepatotoxicity and halothane metabolism in an animal
model with application for human toxicity

Anesth. Intensive Care 7, 9 - 24, 1979

Dahle LK, Hill EG, Holman RT

The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations
of polyunsaturated fatty acid methyl esters

Arch. Biochem. Biophys. 98, 253 - 261, 1962

De Matteis F

Loss of liver cytochrome P-450 caused by chemicals

In: De Matteis F, Aldridge WN (eds)

Heme and hemoproteins, 110 - 115

Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Vol. 44
(Heffter-Huebner, new series)

Berlin, New York: Springer, 1978

De Moor A, Van den Hende C, Moens Y, Desmet P

Increased plasma bromide concentration in the horse
after halothane anesthesia

Am. J. Vet. Res. 39, 1624 - 1626, 1978

Demopoulos HB

Control of free radicals in biologic systems

Fed. Proc. 32, 1903 - 1908, 1973a

Demopoulos HB

The basis of free radical pathology

Fed. Proc. 32, 1859 - 1861, 1973b

Dianzani MU

Biochemical aspects of fatty liver

In: Slater TF (ed)

Biochemical mechanisms of liver injury, 45 - 95

New York: Academic Press, 1978

Dianzani MU, Ugazio G

Lipid peroxidation

In: Slater TF (ed)

Biochemical mechanisms of liver injury, pp 669 - 707

New York: Academic Press, 1978

Dillard CJ, Tappel AL

Fluorescent products from reaction of peroxidizing
polyunsaturated fatty acids with phosphatidyl ethanolamine
and phenylalanine

Lipids 8, 183 - 189, 1973

Dillard CJ, Dumelin EE, Tappel AL

Effect of dietary vitamin E on expiration of pentane
and ethane by the rat

Lipids 12, 109 - 114, 1977

Dugan PR

Rapid Spectrophotometric Determination of Microgram
Amounts of Lauroyl and Benzoyl Peroxide

Anal. Chem. 33, 696 - 698, 1960

Dumelin EE, Tappel AL

Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation
of polyunsaturated fatty acids and decomposition of
preformed hydroperoxides

Lipids 12, 894 - 899, 1977

Dykes MHM

Anaesthesia and the liver: histroy and epidemiology
Canad. Anesth. Soc. J. 20, 34 - 47, 1973

Epstein J, Gershon D

Studies on ageing in nematodes. IV. The effect of antioxi-
dants on cellular damage and life span
Mech. Age. Dev. 1, 257 - 264, 1972

Fiserova-Bergerova V, Holaday DA

Uptake and Clearance of Inhalation Anesthetics in Man
Drug Metabol. Rev. 9, 43 - 60, 1979

Flohé L

Glutathione peroxidase: fact and fiction
In: Oxygen free radicals and tissue damage
CIBA Foundation Symp. 65 (new series)
Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica, 1979

Fong K, McCay PB, Poyer JL

Evidence that peroxidation of lysosomal membranes is
initiated by hydroxyl free radicals produced during
flavin enzyme activity
J. Biol. Chem. 248, 7792 - 7797, 1973

Foote Ch S

Photosensitized oxidation and Singlet Oxygen:
Consequences in Biological Systems
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. I
New York: Academic Press, 1976

Frank H, Hintze T, Remmer H

Volatile hydrocarbons in breath as an indicator for
oeroxidative degraation of lipids
Überlingen: 2nd international symposium on headspace
analysis, Oktober 1978

Frank H, Hintze T, Bimboes D, Remmer H
Monitoring lipid peroxidation by breath analysis:
Endogenous hydrocarbons and their metabolic elimination
Toxicol. Appl. Pharmacol. 56, 337 - 344, 1980

Frank L
Superoxide dismutase and lung toxicity
TIPS 4, 124 - 128, 1983

Fridovich I
Oxygen radicals, Hydrogen peroxide, and oxygen toxicity
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. I
New York: Academic Press, 1976

Fridovich I
Superoxid dismutases: Defence against endogenous
superoxide radicals
In: Oxygen free radicals and tissue damage
CIBA Foundation Symp. 65 (new series)
Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica, 1979

Gee DL, Tappel AL
Production of volatile hydrocarbons by isolated hepa-
tocytes: an in vitro model for lipid peroxidation studies
Toxicol. Appl. Pharmacol. 60, 112 - 120, 1981

Gienger S
Metabolische Radikalbildung von Halothan
München: Med. vet. Diss., 1982

Gram Th E
Extrahepatic metabolism of drugs and other foreign compounds
Lancaster: MTP Press, 1980

Greim H

Adaption der Biotransformation

In: Gerok W, Sickinger K (eds)

Arzneimittel und Leber

Stuttgart: Schattauer, 1975

Guenthner TM, Oesch F

Metabolic activation and inactivation of chemical mutagens

TIPS 2, 129 - 132, 1981

Gulotta F, Rommelsheim K, Freiburger KU

Maligne Hyperthermie, eine gefürchtete Komplikation
der Halothannarkose, morphologische Befunde und patho-
genetische Betrachtungen

Anaesthes. und Intensivmed. - "20 Jahre Fluothane"- 109,
153 - 159, 1978

Hafeman DG, Hoekstra WG

Protection against carbon tetrachloride induced lipid
peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium
and methionine as measured by ethane evolution

J. Nutr. 197, 656 - 665, 1977

Haugaard N

Cellular mechanisms of oxygen toxicity

Physiol. Rev. 48, 311 - 374, 1968

Hempel V, Köster U

Untersuchung der Lipidperoxidation bei Halothan- und
Enfluran-Inhalation am Labortier in vivo mit Hilfe der
Ethanbildung

Reihe Anaesthesiologie und Intensivmedizin

"25 Jahre DGAJ", Bd. 130

Berlin: Springer Verlag, 1980

Hill HAO

The chemistry of dioxygen and its reduction products

In: Oxygen free radicals and tissue damage

CIBA Foundation Symp. 65 (new series)

Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica, 1979

Hintze T, Remmer H

Lipidperoxidation in vivo and in vitro due to CBrCl_3
or ethanol

Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 80, 1979

Hitt BA, Mazze RI

Effect of enzyme induction on nephrotoxicity of

halothane-related compounds

Environ. Health Perspect. 21, 179 - 183, 1978

Hochstein P, Jain SK

Association of lipid peroxidation and polymerisation
of membrane proteins with erythrocyte aging

Fed. Proc. 40, 183 - 188, 1981

Holaday DA

Absorption, Biotransformation and Storage of Halothane

Environ. Health Perspect. 21, 165 - 169, 1977

Holaday DA, Fiserova-Bergerova V

Fate of fluorinated metabolites of inhalation anesthetics
in man

Drug Metabol. Rev. 9, No. 1, 61 - 78, 1979

Högberg J

Regulation and Effects of Lipid Peroxidation in Isolated
Hepatocytes

In: Jollow DJ, Kocsis JJ, Snyder R, Vainio H (eds)

Biological Reactive Intermediates: Formation, Toxicity
and Inactivation, 401 - 414

New York, London; Plenum Press, 1977

- Hughes HC, Lang CM
Hepatic necrosis produced by repeated administration of
halothane to guinea pigs
Anesthesiology 35, 466 - 471, 1972
- Hunter FE Jr, Scott A, Hoffsten PE, Guerra F, Weinstein J,
Schneider A, Schutz B, Fink J, Ford L, Smith E
Studies in the mechanism of ascorbate-induced swelling
and lysis of isolated liver mitochondria
J. Biol. Chem. 239, 604 - 613, 1964
- Jageneau A, Hörig C, Loots W, VanLoon J, Hermans C, Voms L
Influence of serotonin-S₂ antagonists on the halothane-
provoked malignant hyperthermia in stress-susceptible pigs
Im Druck, 1983
- Jenner D, Testa B, Di Carlo FJ
Xenobiotic and endobiotic metabolizing enzymes: on over-
stretched discrimination
TIPS, 135 - 137, 1981
- Kappus H, Köster-Albrecht D, Remmer H
2-Hydroxyoestradiol and (+)-cyanidanol-3 prevent lipid
peroxidation of isolated rat hepatocytes
Arch. Toxicol. Suppl. 2, 321 - 326, 1979
- Keeney M
Secondary degradation products
In: Schultz HW, Day EA, Sinnhuber F (eds)
Lipids and their oxidation, 79 - 89
Westport Conn.: Avi. Publ., 1962
- Kieczka H, Schulze R, Kappus H
Influence of different O₂⁻ and Fe²⁺-concentrations on the
CCl₄-induced lipid peroxidation
Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 81, 1979

Kieczka H, Remmer H, Kappus H

Influence of Oxygen on the Inhibition of Liver Microsomal
Activation of Carbon Tetrachloride by the Catechol
2-Hydroxylstradiol=17

Biochem. Pharmacol. 30, 319 - 324, 1981

Köster U, Albrecht D, Kappus H

Evidence for carbon tetrachloride- and ethanol-induced
lipid peroxidation in vivo demonstrated by ethane
production in mice and rats

Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, 636 - 648, 1977

Köster-Albrecht D, Köster U, Kappus H, Remmer H

Inhibition of CCl_4 -induced lipid peroxidation in
rats in vivo by (+)-Cyanidanol-3

Toxicol. Lett. 3, 363 - 368, 1979

Kreuzer F

Untersuchung von Enfluran auf radikalbildende Eigen-
schaften in vivo

München: Med. vet. Diss., 1982

Larsen ER

The chemistry of modern inhalation anesthetics

In: Chenoweth MB (ed)

Modern inhalation anesthetics, Section 2.0

Reihe Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Band XXX

Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1972

Lieberman M, Kunishi AT

Ethylene production from methionine

Biochem. J. 97, 449 - 459, 1965

Lindquist RR

Studies on the pathogenesis of hepatolenticular degeneration
III. The effect of copper on rat liver lysosomes

Am. J. Pathol. 53, 903 - 928, 1968

- MacDonald TL
Chemical mechanisms of halocarbon metabolism
CRC-Crit. Rev. Toxicol. 11, 85 - 120, 1983
- Marshall BE, Wollman H
General Anesthetics
In: Goodman GA, Goodman LS, Gilman A (eds)
The Pharmacological Basis of Therapeutics
6th Edition
New York: Macmillan Publ. Co., 1980
- McCay PB, Toshikazu N, Fong K-L, Lai EK, Poyer JL
Production of radicals from enzyme systems and the
use of spin traps
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. IV, 155 - 186
New York: Academic Press, 1980
- Mitchell G, Heffron JJA, van Rensburg AJJ
A halothane-induced biochemical defect in muscle of normal
and malignant hyperthermia-susceptible landrace pigs
Anesth. Analg. 59, 250 - 265, 1980
- Myers LS Jr
Free radical damage of nucleic acids and their components
by ionising radiation
Fed. Proc. 32, 1882 - 94, 1973
- Nastainczyk W, Ullrich V, Sies H
Effects of Oxygen concentration on the reaction of
halothane with cytochrome P-450 in liver microsomes and
isolated perfused rat liver
Biochem. Pharmacol. 27, 387 - 392, 1978
- Nastainczyk W, Rendic S, Ullrich V, Krüger R
Hemmung Halothan-induzierter Leberzellnekrosen bei
Ratten durch Metyrapon
Anaesthesist 31, 181 - 184, 1982

Netter KJ

Inhibition of Oxidative Drug Metabolism in Microsomes
Pharmacol. Ther. 10, 521 - 535, 1980

Neuberger J, Davis M

Advances in our understanding of halothane hepatitis
TIPS 5, 19 - 20, 1983

Ottolenghi A

Interaction of ascorbic acid and mitochondrial lipids
Arch. Biochem. Biophys. 79, 355 - 363, 1959

Pfeifer S, Borchert HH

Pharmakokinetik und Biotransformation
Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit, 1980

Plaa GL, Witschi H

Chemicals, Drugs and Lipidperoxidation
Ann. Rev. Pharmacol. 16, 125 - 141, 1976

Placer A, Veselková A, Rath R

Kinetik des Malondialdehydes im Organismus
Experientia 21, 19 - 28, 1965

Pryor WA

The role of free radical reactions in biological systems
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. I
New York: Academic Press, 1976

Purdy RE, Tappel AL

Permeation chromatography of fluorescent products from
tissues and peroxidized lipids
J. Chromatogr. 170, 210 - 220, 1979

Recknagel RO, Glende EA Jr

Carbon tetrachloride toxicity an example of lethal cleavage
CRC-Crit. Rev. Toxicol. 2, 263 - 297, 1973

Recknagel RO, Glende EA, Hruszkewycz AM
Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. III
New York: Academic Press, 1977

Recknagel RO, Glende EA Jr, Waller RL, Lowrey K
Lipidperoxidation: Biochemistry, Measurement and
Significance in Liver Cell Injury
In: Plaa GL, Hewitt WR (eds)
Toxicology of the Liver
New York: Raven Press, 1982

Rehder K, Forbes J, Alter H, Hessler O, Stier A
Halothane biotransformation in man. A quantitative study
Anesthesiology 28, 711 - 715, 1967

Remmer H
Schutzmechanismen des tierischen Organismus gegen
Radikale und deren Folgeprodukte
Der praktische Tierarzt 63, 778 - 790, 1982

Reynolds ES, Moslen MT
Halothane hepatotoxicity: Enhancement by polychlorinated
biphenyl pretreatment
Anesthesiology 47, 19 - 27, 1977

Reynolds ES, Moslen MT
Free radical damage in liver
In: Pryor WA (ed)
Free Radicals in Biology, Vol. IV
New York: Academic Press, 1980

Riely CA, Cohen G, Lieberman M
Ethane evolution; A new index of lipid peroxidation
Science 183, 208 - 210, 1974

Robinson JD

Structural changes in microsomal suspensions

III. Formation of lipid peroxides

Arch. Biochem. Biophys. 112, 170 - 179, 1965

Sachs L

Angewandte Statistik, 216 - 218, 5. Auflage

Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1978

Sagai M, Tappel AL

Lipid peroxidation induced by some halomethanes as
measured by in vivo pentane production in the rat

Toxicol. Appl. Pharmacol. 49, 283 - 291, 1979

Sakai TT, Takaori M

Biodegradation of halothane, enflurane and methoxyflurane

Br. J. Anesth. 50, 785 - 791, 1978

Saprin AN, Piette LH

Spin trapping and its application in the study of
lipid peroxidation and free radical production with
liver microsomes

Arch. Biochem. Biophys. 180, 480 - 492, 1977

Schenkman JB, Gibson GG

Status of the cytochrome P-450 cycle

TIPS 3, 150 - 152, 1981

Schmid A

Causes of drug related iron-intoxication. Ethane
expiration of mice following intraperitoneal Fe^{2+} -
administration

Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 86, 1979

Schmid A

Persönliche Mitteilung, 1982a

Schmid A

Radikalbildung durch organische Schadstoffe

Der praktische Tierarzt 63, 801 - 807, 1982b

Schmid A, Christoph M

Untersuchungen zur Genese der parenteralen Eisenvergiftung

Der praktische Tierarzt 61, 589 - 596, 1980

Schmid A, Jungbauer C

Expiration of foreign substances by mice following

parenteral loading with chlorinated methane derivatives

Arch. Pharmacol. 311 (S), Nr. 76, 1980

Schmid A, Beuter W

Metabolische Radikalbildung aus Tetrachlorethylen und

ihre Beeinflussung durch Enzyminduktion und -hemmung

ZBL. Vet. Med. A, 29, 481 - 488, 1982

Scott ML

Advances in our understanding of vitamin E

Fed. Proc. 39, 2736 - 2739, 1980

Sharp JH, Trudell JR, Cohen EN

Volatile metabolites and decomposition products of
halothane in man

Anesthesiology 50, 2 - 8, 1979

Slater TF, Eakins MN

Interactions of (+)-Cyanidanol-3 with free radical
generation systems

In: Bertelli A (ed)

New Trends in the Therapy of Liver Diseases

Int. Symposium Tirrenia, 84 - 89, 1974

Basel: Verlag S. Karger, 1975

Stevens WC, Eger EJ II, White A, Halsey MJ, Munger W,
Gibson RD, Dolan W, Shargel R

Comparative toxicities of halothane, isoflurane and
diethyl ether at subanesthetic concentrations in
laboratory animals

Anesthesiology 42, 408 - 419, 1975

Stier A

Trifluoroacetic acid as metabolite of halothane

Biochem. Pharmacol. 13, 1544, 1964

Stier A, Alter H, Hessler O, Rehder K

Urinary excretion of bromide in halothane anesthesia

Anesth. Analg. Curr. Res. 43, 723 - 728, 1964

Sweeney GD

Functional heterogeneity among liver cells: implications
for drug toxicity and metabolism

TIPS 3, 141 - 144, 1981

Sykes P

Reaktionsmechanismen in der organischen Chemie,
8te Auflage

Weinheim: Verlag Chemie, 1982

Tappel AL

Vitamin E and free radical peroxidation of lipids

Ann. N. Y. Acad. Sci. 203, 12 - 28, 1972

Tappel AL

Lipid peroxidation damage to cell components

Fed. Proc. 32, 1870 - 1874, 1973

Tappel AL

Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation

In: Pryor WA (ed)

Free Radicals in Biology, Vol. IV

New York: Academic Press, 1980

Tappel AL, Dillard CJ

In vivo lipid peroxidation: measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E

Fed. Proc. 40, 174 - 178, 1981

Terao J, Matsushita S

Thiobarbituric Acid Reaction of Methyl/Arachidonate Monohydroperoxide Isomers

Lipids 16, 98 - 101, 1981

Tinker HJ, Gandolfi AJ, Van Dyke RA

Elevation of plasma bromide levels in patients following halothane anesthesia

Anesthesiology 44, 194 - 196, 1976

Van Dyke RA

Biotransformation of Halothane

In: Chenoweth MB (ed)

Modern Inhalation Anesthetics

Reihe Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Band XXX
Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1972

Van Dyke RA, Chenoweth MB

Metabolism of volatile anesthetics

Anesthesiology 26, 348 - 357, 1965

Van Dyke RA, Chenoweth MB, Larsen ER
Synthesis and metabolism of Halothane-1-¹⁴C
Nature 204, 471 - 472, 1964

Van Dyke RA, Wood CL
In vitro studies on irreversible binding of halothane
metabolite to microsomes
Drug Metab. Dispos. 3, 321 - 329, 1975

Vaughan RW, Sipes IG, Brown BR Jr
Role of biotransformation in the toxicity of
inhalation anesthetics
Life Sci. 23, 2447 - 2462, 1979

Vladimirov YA, Obener VI, Suslova IB, Cheremisina ZP
Lipid peroxidation in mitochondrial membrane
Adv. Lipid Res. 17, 173 - 249, 1980

Waller RL, Recknagel RO
Determination of lipid conjugated dienes with tetra-
cyanoethylene-¹⁴C: Significance of study of the pathology
of lipid peroxidation
Lipids 12, 914 - 921, 1977

Wills ED
Effects of lipid peroxidation on membrane-bound enzymes
of the endoplasmatic reticulum
Biochem. J. 983 - 991, 1971

Willson RL
Hydroxyl radicals and biological damage in vitro:
what relevance in vivo?
In: Oxygen free radicals and tissue damage
CIBA Foundation Symp. 65 (new series)
Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica, 1979

Windholz M, Budavari S, Stroumtsos LY, Fertig MN
Halothane

In: Windholz M (ed)

The Merck Index. 9th ed.

Rahway, New Jersey (USA): Merck & Co., Inc., 1976

Yamamoto I

Mode of action of synergists in enhancing the insecticidal
activity of pyrethrum and pyrethroids

In: Casida JE (ed)

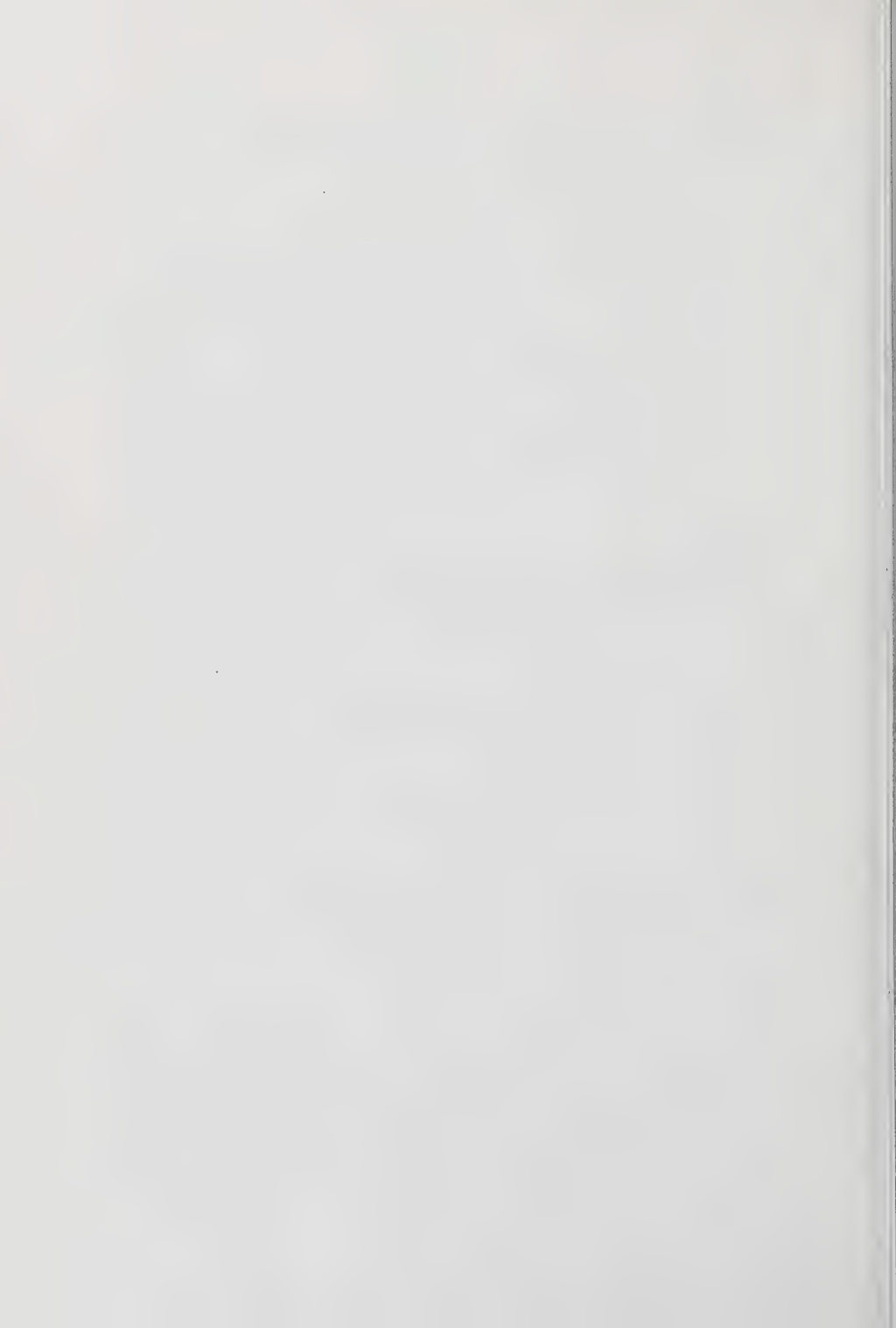
Pyrethrum. The natural insecticide

New York und London: Academic Press, 1973

Zimmermann R

Radikalbildung im tierischen Organismus und deren
pathogenetische Bedeutung

Der praktische Tierarzt 63, 770 - 778, 1982



LEBENS LAUF

Geburtstag: 3. 1. 53

Geburtsort: Erlangen

Eltern: Ingeborg Langner, geb. Bradatsch
Dr. Franz Langner, Arzt

Schul Ausbildung: Besuch der Volksschule in Schwabach
1964 Eintritt in das Johann-Michael-Sailer
Gymnasium Dillingen/Do.
Abitur 1973

Studium: Aufnahme des Studiums der Veterinär-
medizin im Sommersemester 1976 an
der FU Berlin
ab Sommersemester 1978 Fortsetzung
des Studiums an der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Staatsexamen: 1981 in München

Approbation: 1981 in München

Familienstand: seit 1981 verheiratet mit
Christine Langner, geb. Rudisch

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Schmid für die Überlassung des Themas sowie für seine wissenschaftliche Anleitung und seine stets freundlich gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Einen besonderen Dank sage ich auch Frau B. Ferlings, Frau M. Kussmaul und Herrn Dr. W. Beuter, die mir oftmals wertvolle Hilfe leisteten.

